

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA: INGENIERÍA AMBIENTAL

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERA AMBIENTAL**

TEMA:

**EFFECTO Y TOLERANCIA DE SEMILLAS DE HELIANTHUS ANNUUS
(ASTERACEAE), MENTHA PIPERITA (LAMIACEAE) Y MEDICAGO
SATIVA (FABACEAE) A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE
CADMIO**

AUTORA:

FABIOLA ELIZABETH PANCHI CAMPUES

DIRECTOR:

FREDDY VICENTE CUARÁN SARZOSA

Quito, mayo de 2015

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL
TRABAJO TITULACIÓN

Yo, autorizo a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de titulación y su reproducción sin fines de lucro.

Además, declaro que los conceptos, análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad de la autora.

Quito, mayo de 2015

Fabiola Elizabeth Panchi Campues

CC. 1720195088

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación, a Dios por ser el eje de mi vida, me ha dado la fortaleza, paciencia y fe, para no desistir y continuar en esta etapa de mi vida, a mi familia, de manera especial a mis padres Jaime y Fabiola por el apoyo y el esfuerzo que han realizado para poder culminar mis estudios. A mis hermanos Estefania y Fernando por demostrar el amor incondicional y por sus palabras de aliento en esta etapa de mi vida. A mi bello sobrino Benjamín, que con sus ocurrencias alegran mi vida, te amo chiquito hermoso. A mi ahijada Keity mi bella princesa.

A mis queridos amigos: Sabrina, Carmita, Cristina, Diana, Fernando, Danny, Renato, Mayra, por brindarme su amistad sincera y por el apoyo incondicional durante toda mi carrera. A Henry por la amistad, por los sueños compartidos y por estar a mi lado en cada momento de mi vida.

A las personas que llegaron a mi vida, por las nuevas metas y sueños propuestos, por la alegría y por dar sentido a mi vida cada día.

A mis seres queridos por su paciencia y por su amor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi director de tesis, Freddy Cuarán, por apoyarme en la realización de este trabajo y por todas las enseñanzas que me ha compartido.

Agradezco de manera especial al Químico Carlos Ulloa por la colaboración brindada en los laboratorios de química de la Universidad Salesiana campus Sur, y por toda la predisposición que le dio a la realización de este proyecto.

Agradezco también, a todos mis maestros en cada una de las etapas de mi vida estudiantil, por los conocimientos transmitidos y por la dedicación que le ponen en su profesión que es el enseñar.

Gracias y los mejores deseos en el futuro.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1.....	5
MARCO TEÓRICO	5
1.1. Contaminación del agua.....	5
1.2. Contaminación del agua por metales pesados	5
1.3. Fuentes de liberación de Cadmio en el Ecuador	7
1.3.1. Fuentes naturales y antropogénicas	7
1.3.2. Refinación del petróleo	7
1.3.3. Industria de galvanoplastia	7
1.3.4. Pilas y baterías	8
1.3.5. Pilas de Níquel- Cadmio	8
1.4. Marco jurídico del Ecuador	8
1.5. Tratamiento de aguas residuales	10
1.5.1. Procesos físicos.....	10
1.5.2. Procesos químicos.....	10
1.5.3. Procesos biológicos.....	11
1.6. Biorremediación.....	12
1.6.1. Aplicación de plantas para la contaminación por metales	12
1.6.2. Aplicaciones de la rizofiltración	14
1.7. Hidroponía	15
1.7.1. Sistemas de cultivo hidropónico	15
1.7.2. Hidroponía - cultivo sin suelo.....	15
1.7.3. Plantas hiperacumuladoras.....	16
1.7.4. Relación metal-planta	17
1.7.5. Girasol (<i>Heliantus annuus</i>)	18
1.7.6. Menta (<i>Mentha piperita</i>).....	20

1.7.7.	Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	21
1.8.	Semilla	21
1.9.	Germinación.....	22
1.10.	Etapas de la germinación	22
1.10.1.	Imbibición	22
1.10.2.	Movilización de nutrientes.....	24
1.10.3.	Efecto de la temperatura	24
1.10.4.	Presencia de oxígeno.....	24
1.10.5.	Latencia.....	25
1.10.6.	Evaluación de la calidad de la semilla	25
1.10.7.	Determinación de cadmio método de la ditizona.....	26
1.11.	Ubicación	26
1.12.	Condiciones Agroecológicas	26
CAPÍTULO 2.....		27
MATERIALES Y MÉTODOS.....		27
2.1.	Materiales.....	27
2.2.	Métodos.....	28
2.2.1.	Diseño Experimental.....	28
2.2.2.	Tipo de Diseño Experimental	28
2.2.3.	Concentraciones	28
2.2.4.	Unidad Experimental	28
2.2.5.	Variables y métodos de evaluación.....	29
2.2.5.1.	Longitud de la raíz	29
2.2.5.2.	Longitud del tallo	30
2.2.5.3.	Alteración fisiológica.....	31
2.2.5.4.	Potencial hidrógeno	31
2.2.5.5.	Absorción de Cadmio	32

2.3.	Pruebas de significancia.....	32
2.4.	Croquis del experimento	32
CAPÍTULO 3.....		34
MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO		34
3.1.	Obtención, control y conservación de las semillas	34
3.2.	Prueba de germinación de las semillas	34
3.3.	Preparación de las diluciones.....	38
1.3.1.	Preparación de la solución de cadmio.....	38
1.3.2.	Preparación de la solución nutritiva.....	40
3.4.	Elaboración de los cultivos hidropónicos	41
3.5.	Evaluación de la fitotoxicidad	42
1.5.1.	Efecto en la germinación	42
1.5.2.	Efecto en el crecimiento de la radícula	43
1.5.3.	Crecimiento de la raíz y tallo	44
1.5.4.	Tratamiento de los Resultados	44
CAPÍTULO 4.....		45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		45
4.1.	Efecto en la germinación	45
4.2.	Crecimiento de la raíz y tallo	46
4.3.	Alteración fisiológica.....	58
4.4.	Potencial hidrógeno	65
4.5.	Absorción del Cadmio	76
CONCLUSIONES.....		86
RECOMENDACIONES.....		88
LISTA DE REFERENCIAS		89
ANEXOS		94

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Fases del proceso de germinación en <i>Phaseolus vulgaris</i>	23
Figura 2. Estructura de la raíz	29
Figura 3. Estructura del tallo	31
Figura 4. Semillas de girasol, alfalfa y menta, previo al tratamiento.....	34
Figura 5. Semillas de girasol, menta y alfalfa, inicio prueba de germinación	35
Figura 6. Semillas de girasol, menta y alfalfa hidratadas para germinación.....	36
Figura 7. Semillas de girasol, menta y alfalfa cubiertas con plástico negro	36
Figura 8. Porcentaje de germinación de la semilla girasol	37
Figura 9. Porcentaje de germinación de la semilla de menta	37
Figura 10. Porcentaje de germinación de la semilla de alfalfa	38
Figura 11. Preparación de la solución madre de sulfato de cadmio.....	39
Figura 12. Diluciones de sulfato de cadmio	39
Figura 13. Espuma de poliuretano, sustrato para las semillas	41
Figura 14. Distribución de las semillas de girasol en el sustrato.	42
Figura 15. Germinación de la semilla de girasol.....	43
Figura 16. Elongación de la radícula.....	43
Figura 17. Control del crecimiento de tallo de las semillas seleccionadas	44
Figura 18. Control del crecimiento de hojas y raíz de las semillas seleccionadas.....	44
Figura 19. Evolución del crecimiento radicular de la plántula de girasol.....	48
Figura 20. Longitud del tallo de la plántula de girasol	50
Figura 21. Evolución del crecimiento radicular de la plántula de menta.....	52
Figura 22. Longitud del tallo de la plántula de menta.....	54
Figura 23. Evolución del crecimiento radicular de la plántula de alfalfa	56
Figura 24. Longitud del tallo de la plántula de alfalfa	57
Figura 25. Inhibición del crecimiento de la raíz de la plántula de girasol	59

Figura 26. Retraso en el crecimiento de la raíz para la plántula de girasol.....	60
Figura 27. Clorosis de la plántula de girasol.....	60
Figura 28. Retraso en el crecimiento de la raíz para la plántula de menta.....	62
Figura 29. Clorosis de la plántula de menta	63
Figura 30. Inhibición del crecimiento de la raíz de la plántula de alfalfa	64
Figura 31. Retraso en el crecimiento de la raíz para la plántula de alfalfa	64
Figura 32. Clorosis de la plántula de alfalfa	65
Figura 33. Regresión lineal, especies vegetales y concentración de cadmio.....	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Límites máximos permisibles para el cadmio presente en el agua	9
Tabla 2. Procesos utilizados por las plantas para asimilar contaminantes	14
Tabla 3. Ubicación territorial	26
Tabla 4. Condiciones de temperatura.....	26
Tabla 5. Materiales para la investigación.....	27
Tabla 6. Equipos y Reactivos.....	27
Tabla 7. Concentraciones de Cadmio utilizadas.....	30
Tabla 8. Croquis del ensayo experimental, semillas de girasol, menta y alfalfa ...	33
Tabla 9 . Información nutricional del suero adecuado para la hidroponía.....	40
Tabla 10. Concentraciones finales del contaminante, diluciones de cadmio	41
Tabla 11. Porcentaje de germinación entre especies – sin cadmio	45
Tabla 12. Porcentajes de germinación entre especies – con cadmio.....	46
Tabla 13. Longitud del crecimiento y desarrollo de la raíz de girasol	47
Tabla 14. Longitud del tallo de la plántula de girasol	49
Tabla 15. Longitud del crecimiento y desarrollo de la raíz de menta.....	51
Tabla 16. Longitud del tallo de la plántula de menta	53
Tabla 17. Longitud de crecimiento de la plántula de alfalfa	55
Tabla 18. Longitud del tallo de la plántula de alfalfa	56
Tabla 19. Porcentaje de plántulas de girasol que presentan alteraciones fisiológicas, en presencia del cadmio	58
Tabla 20. Porcentaje de plántulas de menta que presentan alteraciones fisiológicas, en presencia del cadmio	61
Tabla 21. Porcentaje de plántulas de alfalfa que presentan alteraciones fisiológicas, en presencia del cadmio	63
Tabla 22. pH de las muestras de agua, con las especies en estudio a los 15 días	66

Tabla 23. Análisis de Varianza para las especies en estudio a los 15 días de exposicion con cadmio	66
Tabla 24. Pruebas de Tukey (5%) de pH, evaluadas a los 15 días.....	67
Tabla 25. pH de las muestras de agua, con las especies en estudio a los 30 días	68
Tabla 26. Análisis de Varianza para las especies en estudio a los 30 días de exposicion con cadmio	68
Tabla 27. Pruebas de Tukey (5%) de pH, evaluadas a los 30 días.....	69
Tabla 28. pH de las muestras de agua, con las especies en estudio a los 45 días	70
Tabla 29. Análisis de Varianza para las especies en estudio a los 45 días de exposicion con cadmio	71
Tabla 30. Pruebas de Tukey (5%) de pH, evaluadas a los 45 días.....	71
Tabla 31. Datos promedio de pH de las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.	72
Tabla 32. Análisis de varianza para la variable pH de las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio.....	74
Tabla 33. Pruebas de Tukey (5%) para la variable de pH de las especies en estudio en diferentes periodos de tiempo	74
Tabla 34. Pruebas de Tukey (5%) para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo	75
Tabla 35. Pruebas de Tukey (5%) para la interaccion de las especies en estudio y las concentraciones de cadmio en diferentes periodos de tiempo	75
Tabla 36. Absorción de cadmio, de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 15 días	76
Tabla 37. Análisis de Varianza para las especies en estudio a los 15 días de exposición con cadmio	77
Tabla 38. Pruebas de Tukey (5%), absorción de Cd, evaluadas a los 15 días	78
Tabla 39. Absorción de cadmio, de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 30 días	78
Tabla 40. Análisis de Varianza para las especies en estudio a los 30 días de exposicion con cadmio	79

Tabla 41. Pruebas de Tukey (5%) para la absorción de cadmio, evaluadas a los 30 días de exposición	80
Tabla 42. Absorción de cadmio, de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 45 días	80
Tabla 43. Análisis de Varianza para la absorción de Cd a los 45 días	81
Tabla 44. Pruebas de Tukey (5%) para la absorción de cadmio, evaluadas a los 45 días.....	81
Tabla 45. Promedio de las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.....	82
Tabla 46. Análisis de varianza para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio	84
Tabla 47. Pruebas de Tukey (5%) para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.....	84
Tabla 48. Pruebas de Tukey (5%) para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo	85
Tabla 49. Pruebas de Tukey (5%) para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo	85
Tabla 50. Coeficiente de determinación para las variables de pH y la absorción de cadmio de las especies de girasol y alfalfa a las diferentes concentraciones	86

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos 1. Norma técnica ecuatoriana (INEN), determinación de Cadmio, método de la ditizona.....	94
Anexos 2. Efecto en la germinación de las semillas, frente a la exposición de cadmio.....	97
Anexos 3. Datos experimentales del control de crecimiento radicular para las especies vegetales en estudio.....	98
Anexos 4. Datos experimentales del control de crecimiento de la plántula para las especies vegetales en estudio.	101
Anexos 5. Control de la variación del pH durante la investigación.....	104
Anexos 6. Control de la absorción de cadmio durante la investigación.	105

RESUMEN

El cadmio es un metal pesado, que tiene una alta peligrosidad al no ser química ni biológicamente degradable, motivo por el cual es uno de los causantes de la degradación ambiental, provocando daños directos en el hombre. En el Ecuador el cadmio se encuentra como producto de actividades industriales, presentes en los efluentes de agua y en el suelo, provocando un impacto ambiental al encontrarse directamente relacionado con fuentes de agua. Se han propuesto varios mecanismos para el tratamiento de efluentes contaminados por metales pesados, en este trabajo de investigación, se propone un tratamiento biológico como es la fitorremediación para remover el cadmio presente en el agua. Se realizó a nivel de laboratorio un experimento donde se expuso a las semillas de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), a diferentes concentraciones de cadmio en un medio hidropónico, por un periodo de 45 días, donde se analizó los cambios que se produjeron a nivel fisiológico en las especies y la reducción de cadmio presente en la muestra de agua y las variaciones de pH que la interacción entre el metal y la plántula produjeron. De los análisis realizados se obtuvo que la especie de alfalfa tuvo la capacidad de reducir la mayor cantidad de cadmio presente en el agua, reduciendo su concentración de 10 ppm a 6,4 ppm a los 30 días de exposición.

ABSTRACT

Cadmium is a heavy metal, which by their nature have a high threat to not be chemically or biologically degradable, why is one of the causes of environmental degradation, and causes direct damage in man. In Ecuador this metal is as a result of industrial activities present in the effluents and soil, causing an environmental impact due to their involvement to be directly related to water sources. At present there are proposed various types of wastewater treatment for removal of heavy metals, in this study a biological treatment is proposed as fitorremediación to remove the cadmium in the water. Was performed in the laboratory an experiment where I was exposed to the seeds of sunflower (*Helianthus annuus*), Peppermint (*Mentha piperita*) and Alfalfa (*Medicago sativa*), at different concentrations of cadmium in a hydroponic medium, for a period of 45 days, where changes occurring in the physiological level and reducing species cadmium present in a water sample was analyzed, pH variations that interaction between the metal and the seedling produced. From the analyzes was obtained that kind of alfalfa was able to absorb as much of cadmium in the water, reducing its concentration of 10 ppm to 6,4 ppm after 30 days of exposure.

INTRODUCCIÓN

El hombre produce constantemente desechos industriales, que se generan en las actividades cotidianas, gran parte de estos desechos son dispuestos hacia el ambiente de forma inadecuada, esto sumado al “crecimiento poblacional, la contaminación de los recursos hídricos y la degradación de los ecosistemas, son de los más grandes problemas que afectan al desarrollo sostenible de los países, debido a la presión creciente de la demanda de agua”.(Energy BITTIUM, 2009)

Los metales pesados además de causar algunos de los problemas ambientales más graves, de acuerdo a la exposición y las circunstancias en que se encuentren en contacto, son los causantes de la degradación y muerte de la vegetación, de los animales, contaminación de los ríos, inclusive causa daños directos en el hombre.

De los “118 elementos químicos conocidos hasta el momento 87 son metales” (Bellama, 2000, pág. 1), motivo con por el cual las posibilidades de contaminación por metales pesados en el ambiente son numerosas. Hay que tener en cuenta que los metales pesados son materias que se presentan en el ambiente de forma natural y que han constituido una base importante en el desarrollo de las civilizaciones. El problema radica en el excesivo uso industrial de estos metales, que a lo largo del tiempo pueden afectar a la salud de las personas que se encuentran en contacto.

Entre los metales más contaminantes se destacan el plomo y el mercurio, seguidos por el berilio, el bario, el cadmio, el cobre, el manganeso, el níquel, el estaño, el vanadio y el zinc. “La actividad industrial y minera arroja al ambiente metales tóxicos como plomo, mercurio, cadmio, y arsénico, muy dañinos para la salud humana y para la mayoría de formas de vida”. (Marrugo, 2011, pág. 5)

En el Ecuador las principales fuentes de contaminación causada por metales pesados, son “la actividad minera, el uso de pesticidas y plaguicidas en la agricultura, la quema de basura urbana, la quema de combustibles fósiles” (Garzón, 2006), convirtiéndose

en un problema ambiental, que afecta el normal desarrollo de estas actividades, razón por la cual es primordial atender esta problemática. “En el caso de la minería las poblaciones de Zaruma, Portovelo, Nambija y la zona norte de Esmeraldas”(Garzón, 2006, pág. 10), son las más afectadas por esta actividad.

Por otro lado el uso de agroquímicos, son los responsables de la acumulación de metales pesados en el suelo, y posteriormente en el agua.

Uno de los materiales tóxicos responsable de la contaminación ambiental e industrial es el cadmio, ya que tiene cuatro de las características principales de un tóxico, es decir que “sus efectos son adversos para el hombre y su ecosistema, tienen capacidad de bioacumulación, tienen gran persistencia en el medio ambiente, viajan a grandes distancias con el viento y cuerpos de agua” (Ramírez, 2002, pág. 11).

Los principales usos y aplicaciones del cadmio o sus compuestos, son como pigmento en pinturas, esmaltes, plásticos, textiles, vidrios, tintas de impresión, caucho, lacas, etc. “En aleación con cobre, aluminio y plata. En la producción de pilas de cadmio-níquel. Como estabilizador de termoplásticos, como el PVC. En la fabricación de fotoconductores y células solares fotoeléctricas”(Ramírez A. , 2002, pág. 13) .

Las principales fuentes de contaminación del cadmio son, la minería metalurgia de metales no ferrosos, la metalurgia del hierro y acero, la fabricación de fertilizantes fosfatados, la incineración de residuos de madera, carbón o “plásticos”, la combustión de aceite y gasolina y las aplicaciones industriales de cadmio. “El tiempo de permanencia del cadmio en suelos es de hasta 300 años y el 90% permanece sin transformarse.” (Dou, 1999, pág. 215). Es decir que de manera general el cadmio y todos los metales pesados tienen una alta peligrosidad al no ser química ni biológicamente degradables. Una vez emitidos, pueden permanecer en el ambiente durante cientos de años.

Las políticas públicas deben estar direccionadas a establecer mecanismos sobre la dotación de agua a la población, la calidad y la cantidad requerida donde se garantice que se encuentran libres de materiales tóxicos y metales pesados, debido a que afectan la salud de las personas y por ende su integridad. Por ello es necesario establecer acciones que estén dirigidas hacia la prevención y control de las descargas de agua industriales, promoviendo el desarrollo tecnológico y la innovación científica en este tema.

OBJETIVOS

General

Evaluar la Tolerancia de las semillas de Girasol (*Helianthus annuus*), Menta (*Mentha piperita*) y Alfalfa (*Medicago sativa*), al entrar en contacto con Cadmio a diferentes concentraciones, como un mecanismo de biorremediación.

Específico

- Evaluar las características fisiológicas que presenta las plantas de Girasol (*Helianthus annuus*), Menta (*Mentha piperita*) y Alfalfa (*Medicago sativa*) germinadas en un medio contaminado con Cadmio.
- Determinar el grado de concentración del Cadmio en las diferentes partes del germinado de Girasol (*Helianthus annuus*), Menta (*Mentha piperita*) y Alfalfa (*Medicago sativa*).
- Identificar cuál de las especies en estudio, es más tolerante en un medio contaminado con Cadmio.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1. Contaminación del agua

La acción del hombre hacia la naturaleza, en las últimas décadas se ha desarrollado de manera incontrolada y ha generado cambios adversos sobre la misma. La industria aumenta su producción debido a la alta demanda de las necesidades básicas de la población, creando una cadena causas y efectos para la naturaleza y la disponibilidad de los recursos naturales para las futuras generaciones.

“Ciertas prácticas de aprovechamiento de la naturaleza y sus riquezas, conllevan efectos que alteran la estabilidad de los ecosistemas, afectan la sustentabilidad de los recursos naturales y actúan sobre la salud de los seres vivos en forma negativa”(Rodríguez, 2002, pág. 12). Un caso particular es la contaminación del agua, el uso y manejo incontrolado de este recurso causa un impacto en su disponibilidad.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2000), el agua está contaminada cuando su composición se haya alterado de modo que no reúna las condiciones necesarias para el uso al que se la hubiera destinado en su estado natural. “Una definición de la contaminación del agua dice que el medio acuático está contaminado cuando la composición o el estado del agua están modificados, directa o indirectamente, por el hombre, o por eventos de la naturaleza”(Medioambiente, 2000, pág. 17).

Es decir que se produce una alteración de las condiciones naturales del cuerpo de agua (rio, lagos), causado muchas veces por las descargas incontroladas de efluentes contaminados de las industrias, generando la saturación total del agua.

1.2. Contaminación del agua por metales pesados

La calidad de las aguas puede ser alterada como consecuencia de las actividades antropogénicas o naturales. Según (Branco Murgel, Samuel, 2000), se define a la contaminación del agua como la alteración desfavorable que sufre, al incorporársele

una serie de sustancias que cambian sus condiciones naturales de calidad, ocasionando grandes riesgos para la salud y el bienestar de la población.

“Particularmente peligroso es la contaminación provocada por las altas concentraciones de algunos metales pesados y su incremento en los efectos adversos causados por la persistencia y el fenómeno de biomagnificación” (Topalián, Castañé., 1999, pág. 63). “De forma natural, los metales son introducidos a los sistemas acuáticos como resultado de la lixiviación de suelos y rocas, y erupciones volcánicas” (Laws, 1991, pág. 280).

También pueden provenir de las “actividades antropogénicas como son, agrícolas, domésticas, industriales y mineras” (Mountouris A, 2002, pág. 1136). La metalurgia, es causante de la contaminación por metales pesados, y no se eliminan de los ecosistemas por medio de procesos naturales, ya que no son biodegradables, ocasionando que la remediación en los cuerpos de agua contaminados se dificulte.

“Hoy en día los metales pesados tienen un gran significado como indicadores de la calidad ecológica de todo flujo de agua debido a su toxicidad y muy especialmente al comportamiento bioacumulativo” (Purves, 1985, pág. 273).

En la industria, el cadmio es utilizado por su gran resistencia a la corrosión, su bajo punto de fusión y al ser un excelente conductor eléctrico, su uso se ha derivado en pigmentos, revestimientos, pinturas y baterías recargables de níquel - cadmio.

El cadmio, como fuente de polución en el medio, proviene primariamente de efluentes industriales (fundición del cobre, zinc, plomo y níquel) y municipales, así como de la degradación atmosférica procedente de la combustión de plásticos, combustibles de automóviles, gomas y del humo de tabaco.

Según (Clark, 1992), las emisiones atmosféricas de cadmio, consideradas como la ruta principal de entrada al ambiente, “son primariamente antropogénicas y se han estimado en unas 7 300 tm/año, comparadas con las 960 tm/año de fuentes naturales” (Alcivar, 2011).

1.3. Fuentes de liberación de Cadmio en el Ecuador

1.3.1. Fuentes naturales y antropogénicas

El cadmio es una sustancia que se encuentran en forma natural en la corteza terrestre, y puede convertirse en contaminante si su distribución en el ambiente es alterado debido a actividades humanas.

Esta contaminación puede ocurrir durante “la extracción y refinamiento de productos minero, por la liberación al ambiente de efluentes industriales, además del manejo inadecuado de desechos metálicos contaminando otros compartimientos ambientales como agua superficial, agua subterránea, biota, sedimentos”

Las principales fuentes de emisión en Ecuador (Ramírez A. , 2002) son:

- Baterías, pilas
- Pigmentos y Estabilizadores en Plástico y PVC
- Pigmentos en Pinturas
- Galvanización
- Catalizadores y Conservadores en la Industria del Plástico
- Aleaciones(Ramírez A. , 2002, pág. 12).

1.3.2. Refinación del petróleo

“Los metales pesados como cadmio, cromo, vanadio, plomo, níquel, arsénico y zinc están usualmente presentes en las descargas de una refinería. En el Ecuador existen tres refinerías de petróleo” (Garzón, 2006, pág. 26).

1.3.3. Industria de galvanoplastia

Los efluentes finales son ácidos que contienen de “200 a 300 mg/dm³ de sólidos en suspensión, cobre, níquel, zinc en cantidades variables (300 a 600 mg/dm³)”(Garzón, 2006, pág. 14), ocasionalmente tienen cromo, plomo o cadmio y frecuentemente cianuro.

1.3.4. Pilas y baterías

“Las pilas son causantes del 93% del mercurio de la basura, del 47% del zinc, del 48 % del cadmio, del 22% del níquel, etc.”(Garzón, 2006, pág. 12). Ecuador solo importa y no produce pilas y baterías, excepto las de tipo pilas plomo- ácido. De esta forma, se cuenta con el dato correspondiente para el “2000 equivalente a un volumen de importación superior a 1,957 Ton de pilas y baterías. Se conoce el consumo anual per cápita que es equivalente a 10.6 piezas”(Ramírez A. , 2002, pág. 12).

1.3.5. Pilas de Níquel- Cadmio

Las pilas de níquel-cadmio, se consideran como recargables, debido a que las reacciones químicas que se producen al estar en contacto estos dos metales son reversibles, es decir son capaces de producirse durante un tiempo (llamado ciclo de vida de la batería, carga-descarga).

Posterior a la utilización de las pilas estas se convierten en un residuo toxico, que se depositan en la basura, son incineradas, o son arrojadas directamente a los cauces de agua. “Cuando una pila pierde su cubierta protectora de metal, libera diferentes tipos de metales que producen efectos notoriamente nocivos para el ecosistema y la salud de los seres humanos” (David, 1995, pág. 15).

1.4. Marco jurídico del Ecuador

El Ecuador ha creado normativa nacional para regular la aplicación o uso de cadmio y plomo en diferentes productos, entre las que tenemos:

- Reglamento técnico ecuatoriano INEN 126 “joyas y bisutería”, en donde se indica que “el contenido de plomo en joyas y bisutería, de antimonio, arsénico, bario, cadmio, cromo, mercurio y selenio en la pintura y recubrimientos de superficies, debe estar conforme a lo que se establece en la norma ASTM F 2923 vigente”.

- Norma Técnica Ecuatoriana obligatoria No. 1804, referente a requisitos para productos cerámicos vitrificados, vajilla y demás artículos de uso doméstico, higiene o tocador, la cual en su tabla No. 3 establece límites máximos de contenidos de cadmio y plomo.
- Norma Técnica Ecuatoriana voluntaria No. 2533, referente a la disposición o tratamiento para baterías plomo-ácido en desuso, en donde se establece requisitos y lineamientos para el manejo adecuado y tratamiento de las baterías plomo – ácido en desuso.
- Norma de Calidad Ambiental y de Agua Descarga de efluentes: Recurso Agua. (Libro VI, Anexo 1). Publicado en el Texto Unificado de Legislación Ambiental del Ministerio del Ambiente, Decreto Ejecutivo No. 3516 publicado en la Edición Especial No. 2 del Registro Oficial del 31 de Marzo de 2003, en el cual se señalan algunos límites máximos permisibles:

Tabla 1.

Límites máximos permisibles para el cadmio presente en el agua

Parámetro analizado: Cadmio (Cd) - mg/l		
Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes para el recurso agua	Límite Máximo Permissible	
Límites máximos permisibles para aguas de consumo humano y uso doméstico, que únicamente requieren tratamiento convencional	0,01	
Límites máximos permisibles para aguas de consumo humano y uso doméstico que únicamente requieran desinfección	0,001	
Criterios de Calidad admisibles para la preservación de la flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuario	Agua fría dulce	0,001
	Agua cálida dulce	0,001
	Agua marina y de estuario	0,005
Criterios referenciales de calidad para aguas subterráneas, considerando un suelo con contenido de arcilla entre (0-25,0) % y de materia orgánica entre (0-10,0) %.	3,2	
Criterios de calidad admisibles para aguas de uso agrícola	3,2	
Criterios de calidad para aguas de uso pecuario	0,05	
Límites de descarga al sistema de alcantarillado público	0,02	
Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce	0,02	
Límites de descarga a un cuerpo de agua marina	0,2	

Nota: Se presenta los criterios de calidad, uso y descarga para cadmio. Fuente: Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: recurso agua (TULAS, p. 286)

En base a la normativa mencionada, el Ministerio del Ambiente está verificando los laboratorios ambientales que se encuentran en capacidad de determinar presencia de cadmio y plomo en diferentes matrices; con el fin de solicitar al Comité de Comercio Exterior del Ecuador la restricción o prohibición de los productos que no cumplan los niveles de cadmio y plomo establecidos en la Norma INEN 1804, para lo cual se utilizaría a los resultados de laboratorios realizados previo a la aprobación de la importación de dichos productos al país.

1.5. Tratamiento de aguas residuales

En ingeniería ambiental el término tratamiento de aguas “es el conjunto de operaciones unitarias de tipo físico, químico o biológico cuya finalidad es la eliminación o reducción de la contaminación así como la eliminación de las características no deseables de las aguas” (Roman, 2012, pág. 125), bien sean naturales, de abastecimiento, de proceso o residuales llamadas, en el caso de las urbanas, aguas negras.

1.5.1. Procesos físicos

“Los procesos físicos de tratamiento de aguas residuales son todos aquellos en los que se emplean las fuerzas físicas para el tratamiento” (Sans, 1999, pág. 128). En general, las operaciones físicas se emplean durante todo el proceso del tratamiento de las aguas residuales, aunque algunas son casi exclusivamente operaciones de pre tratamiento (desbaste, homogenización de caudales, etc.). Los principales procesos físicos son los siguientes: desbaste, homogenización, floculación, sedimentación, flotación, filtración.

1.5.2. Procesos químicos

Los procesos químicos son todos aquellos “procesos en los que la eliminación de los contaminantes del agua residual se lleva a cabo mediante la adición de reactivos químicos o bien mediante las propiedades químicas de diversos compuestos” (Sans, 1999, pág. 137).

Los procesos químicos se utilizan en la depuración de aguas junto a operaciones físicas y procesos biológicos. Los principales procesos químicos son los siguientes: precipitación química, adsorción, desinfección, desinfección con cloro, ozono (eliminación de materia orgánica refractaria), ósmosis inversa, ultrafiltración.

1.5.3. Procesos biológicos

Constituyen una serie de importantes procesos de tratamiento que tienen como objetivo remover la demanda biológica de oxígeno (DBO) soluble del efluente proveniente del tratamiento primario, además de remover cantidades adicionales de sólidos sedimentables.

El mecanismo que utiliza este tratamiento consiste en reproducir los fenómenos naturales de estabilización de la materia orgánica, que ocurre en el cuerpo receptor. La ventaja es que en ese proceso el fenómeno se realiza con más velocidad para facilitar la descomposición de los contaminantes orgánicos en períodos cortos de tiempo.

Un tratamiento secundario remueve aproximadamente “85% de la DBO y los sólidos suspendidos, aunque no remueve cantidades significativas de nitrógeno, fósforo, metales pesados, demanda química de oxígeno (DQO) y bacterias patógenas”(Eddy & Metcalf , 1996).

Los principales procesos de tratamiento biológico utilizados en el tratamiento de aguas residuales en cuanto al tipo de microorganismos son:

- Procesos aerobios: procesos de tratamiento biológico que se dan en presencia de oxígeno.
- Procesos anóxicos : son procesos en los que la ausencia de O_2 y la presencia de NO_3^- hacen que este último elemento sea el aceptor de electrones, transformándose, entre otros, en N_2 , elemento completamente inerte.
- Procesos anaerobios: procesos de tratamiento biológico que se dan en ausencia de oxígeno.

Los microorganismos más utilizados en los tratamientos biológicos son: bacterias, hongos, algas, protozoos, rotíferos, crustáceos y virus. Siendo la biorremediación el exponente más conocido en utilizar estos microorganismos.

1.6. Biorremediación

La biodegradación es el “proceso natural por el cual los microorganismos degradan o alteran moléculas orgánicas transformándolas en moléculas pequeñas y no tóxicas. Sin embargo, este proceso es muy lento y puede acelerarse introduciendo determinadas bacterias o plantas en los ambientes contaminados” (Kuehl, Diseño de experimentos, 2001, pág. 19).

Esta intervención se denomina “biorremediación” o “biocorrección” y se define como el empleo de organismos vivos para eliminar o neutralizar contaminantes del suelo o del agua.

Los mecanismos de biorremediación más utilizados para degradar ambientes contaminados en el suelo y agua, son: “degradación enzimática, remediación microbiana, fitorremediación, fitoestabilización, fitovolatilización” (Sandoval, 2005, p. 86).

1.6.1. Aplicación de plantas para la contaminación por metales

Se puede clasificar a la biorremediación como *in situ* o *ex situ*. La primera consiste en tratar el material contaminado en el lugar en que se encuentra sin trasladarlo a otra parte. Por ejemplo las “operaciones de compostaje, la ventilación biológica, la utilización de biorreactores, la filtración por raíces o la estimulación biológica” En los procesos *ex situ* el material contaminado es trasladado a otro lugar para realizar o completar su descontaminación (Meagher, 2000, p. 153).

Se puede usar la remediación por medio de plantas o fitorremediación para tratar metales pesados presentes en agua o suelo por medio del uso de plantas transgénicas que concentren estas toxinas, las cuales pueden ser cosechadas y eliminadas.

“En lugares contaminados con metales, se usan plantas para estabilizar o retirar los metales del suelo y de las aguas subterráneas por medio de dos mecanismos: fitoextracción y rizofiltración” (Kuehl, Diseño de experimentos, 2001, pág. 661).

- **Fito-extracción de metales**

Todas las plantas absorben metales del suelo donde se encuentran pero en distinto grado, dependiendo de la especie vegetal, y de las características y contenido en metales del suelo. “Las plantas pueden adoptar distintas estrategias frente a la presencia de metales en su entorno” (Baker, 1981, pág. 643). Unas basan su resistencia a una eficiente exclusión del metal, restringiendo su transporte a la parte aérea. Otras acumulan el metal en la parte aérea en una forma no tóxica para la planta.

El pH es un parámetro importante para definir “la movilidad del catión, debido a que en medios de pH moderadamente alto se produce la precipitación como hidróxidos. En medios muy alcalinos, pueden nuevamente pasar a la solución como hidroxicomplejos” (Brown & Chaney, 1994, pág. 1131). La adsorción de los metales pesados está fuertemente condicionada por el pH del suelo y por lo tanto, también su solubilidad.

Metales pesados como el cadmio (Cd) y el zinc (Zn), se pueden absorber en mayor grado en plantas como rábanos y zanahorias, en las hojas de los rábanos se llegan a acumular mayores contenidos del metal, provocando en la hojas un “marchitamiento y disminución en la longitud de sus raíces y de la biomasa; para zanahorias se reporta en igual grado acortamiento en raíces y acumulación mayor en las mismas del metal” (Intawongse, 2006.).

1.6.2. Rizofiltración

Aunque la rizofiltración es una técnica parecida a la fitoextracción, en este caso las plantas que se utilizan para descontaminar, se siembran y crecen en invernaderos con las raíces sumergidas en agua, en vez de en tierra.

Tabla 2.

Procesos utilizados por las plantas para asimilar contaminantes

Tipo	Proceso Involucrado	Contaminación Tratada
Fitoextracción	Las plantas se usan para concentrar metales en las partes cosechables (hojas y raíces)	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, plomo selenio, zinc
Rizofiltración	Las raíces de las plantas se usan para absorber, precipitar y concentrar metales pesados a partir de efluentes líquidos contaminados y degradar compuestos orgánicos	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, plomo selenio, zinc isótopos radioactivos, compuestos fenólicos
Fitoestabilización	Las plantas tolerantes a metales se usan para reducir la movilidad de los mismos y evitar el pasaje a napas subterráneas o al aire.	Lagunas de deshecho de yacimientos mineros. Propuesto para fenólicos y compuestos clorados.
Fitoestimulación	Se usan los exudados radiculares para promover el desarrollo de microorganismos degradativos (bacterias y hongos)	Hidrocarburos derivados del petróleo y poliaromáticos, benceno, tolueno, atrazina, etc.
Fitovolatilización	Las plantas captan y modifican metales pesados o compuestos orgánicos y los liberan a la atmósfera con la transpiración.	Mercurio, selenio y solventes clorados (tetraclorometano y triclorometano)
Fitodegradación	Las plantas acuáticas y terrestres captan, almacenan y degradan compuestos orgánicos para dar subproductos menos tóxicos o no tóxicos.	Muníciones (<u>TNT</u> , <u>DNT</u> , <u>RDX</u> , nitrobenceno, nitrotolueno), atrazina, solventes clorados, <u>DDT</u> , pesticidas fosfatados, fenoles y nitrilos, etc.

Nota: Procesos utilizados para la descontaminar suelos o agua que contienen metales pesados.

Fuente: ecojoven (Frers C. , 2010)

1.6.3. Aplicaciones de la rizofiltración

- **Coberturas vegetales**

La disposición de coberturas vegetales en zonas problemáticas apunta fundamentalmente para: control de infiltración del agua, saneamiento de suelos, barreras hidráulicas en aguas subterráneas.

- **Sistemas de humedales para tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales**

“Este sistema sería promisorio para las costas metropolitanas, donde los niveles de contaminación son verdaderamente alarmantes” (Lumelli M. F., 2010, pág. 34). Los contaminantes son eliminados por transpiración, por degradación en las raíces o por acumulación en los tejidos de las plantas.

1.7. Hidroponía

Utilizando la técnica de hidroponía, se puede desarrollar una planta desde su semilla hasta su etapa final de crecimiento en un medio líquido, esta técnica es una opción factible para esta investigación, porque permite controlar las condiciones de crecimiento optimas de las semillas que germinarán, ya que el contaminante se pondrá en contacto directo con la semilla, descartando el proceso tradicional que consiste en exponer a la planta con el contaminante en su etapa de maduración.

La hidroponía es parte de los sistemas de producción llamados “Cultivos sin Suelo”. En estos sistemas “el medio de crecimiento y/o soporte de la planta está constituido por sustancias de diverso origen, orgánico o inorgánico, inertes o no inertes es decir con tasa variable de aportes a la nutrición mineral de las plantas” (Burés S. , 1997, pág. 342).

Las raíces reciben una solución nutritiva equilibrada disuelta en agua con todos los elementos químicos esenciales para el desarrollo de la planta. Y pueden crecer en una solución mineral únicamente o bien en un medio inerte como arena lavada, grava o perlita. Los investigadores en fisiología vegetal descubrieron en el siglo XIX que las plantas absorben los minerales esenciales por medio de iones inorgánicos disueltos en el agua.

En condiciones naturales, el suelo actúa como reserva de nutrientes minerales pero el suelo en si no es esencial para que la planta crezca. “Cuando los nutrientes minerales de la tierra se disuelven en agua, las raíces de la planta son capaces de absorberlos y ya no se requiere el suelo para que la planta prospere”. Casi cualquier planta terrestre puede crecer con hidroponía, pero algunas pueden hacerlo mejor que otras(Lumelli M., 2010, p. 510).

1.7.1. Sistemas de cultivo hidropónico

A continuación se describen los diferentes sistemas de cultivo hidropónico y los mecanismos que emplean para la remoción de contaminantes:

- **Sistema de raíz flotante:** se utilizan mesas de cultivo, donde se colocan a las plantas, en una plancha de poliestireno de alta densidad, que contiene tiene divisiones para cada planta de modo que las raíces pueden estar total o parcialmente inmersas en la solución nutritiva. La solución se oxigena pasiva o forzadamente.
- **Sistema NFT: cultivo en película nutritiva:** el sistema NFT (técnica de película de nutrientes) es un sistema de cultivo en agua, donde la solución nutritiva circula continuamente por una serie de canales de cultivo donde se desarrollan las raíces de las plantas.

“Por este canal corre una película de agua que contiene los nutrientes de unos 3 a 5 milímetros, suficientes para alimentar la planta y permitir la oxigenación de las raíces” (Mera, 2013, p. 38).

- **NFT modificado:** en este caso, parte del sistema radical se encuentra en un sustrato inerte. “Los sustratos más utilizados son: rockwool, perlita o vermiculita expandidas, olas o en mezclas, entre otros” (Lumelli M., 2010).
- **Sistema aeropónico:** “las raíces de las plantas crecen suspendidas en el “aire”, en un ambiente saturado de humedad. La solución nutritiva se aplica intermitentemente (pulsos de riego - no riego)” (Lumelli M., 2010).
- **Sistema de cultivo en sustrato inerte-**, corresponde a cualquier material que no sea un “suelo convencional”. Este sistema se utilizara en la presente investigación, mediante el uso se un sustrato de algodón, que cubrirá a la semilla.

1.7.2. Plantas hiperacumuladoras

“La sensibilidad de las especies vegetales a los metales pesados varía considerablemente a través de reinos y familias, siendo las plantas vasculares ligeramente más tolerantes” (M. Rosa, Sierra,, 1999, pág. 57). “Las diferentes respuestas de las plantas vasculares a metales pesados pueden ser atribuidas a factores genéticos y fisiológicos”(Calow, 1993 , pág. 478).

Todas las plantas absorben metales del suelo donde se encuentran pero en distinto grado, “dependiendo de la especie vegetal, y de las características y contenido del metal. Las plantas pueden adoptar distintas estrategias frente a la presencia de metales en su entorno” (Baker, 1981, pág. 61).

Unas basan su resistencia a los metales con la estrategia de una eficiente exclusión del metal, restringiendo su transporte a la parte aérea. Otras acumulan el metal en la parte aérea en una forma no tóxica para la planta.

La exclusión es más característica de especies sensibles y tolerantes a los metales, y la acumulación es más común de especies que aparecen siempre en suelos contaminados.

Las plantas hiperacumuladoras generalmente “tienen poca biomasa debido a que ellas utilizan más energía en los mecanismos necesarios para adaptarse a las altas concentraciones de metal en sus tejidos” (Kabata-Pendias, 2000, pág. 365).

La capacidad de las plantas para bioacumular metales y otros posibles contaminantes varía según la especie vegetal y la naturaleza de los contaminantes.

Algunas plantas son capaces de acumular cantidades excesivas de metales pesados, y se les conoce con el término “hiperacumuladoras” que fue introducido primero por Brooks 1977, refiriéndose originalmente a las plantas que adquirieron una concentración excesiva del níquel (1000 mg/g) sobre una base del peso seco.

El concepto fue ampliado más adelante a otros elementos tales como cadmio, cobalto, cobre, plomo, selenio y zinc.

1.7.3. Relación metal-planta

Se conocen alrededor de 400 especies de plantas con capacidad para hiperacumular selectivamente alguna sustancia. Algunos metales como el Ni por ejemplo, que puede llegar a ser menos adsorbido en suelos, “puede ser fácilmente adsorbido por las plantas y ser ligeramente tóxico para las mismas, siendo un elemento móvil en los tejidos de las plantas, se acumulan preferiblemente en las hojas y en las semillas”(Moral, 2002, pág. 2781).

También se reporta que en lugares donde se ha regado con aguas residuales y a consecuencia de la acumulación de metales por estos usos en suelos, “ha llegado a acumularse en plantas como maíz, trigo y alfalfa, metales pesados como cadmio, níquel y plomo en las mismas, principalmente en tejido foliar, en hojas de la alfalfa e incluso en granos de trigo” (Lucho, 2005).

El cadmio presente en los alimentos es la principal fuente de exposición para la mayoría de las personas. En la mayoría de las zonas no contaminadas con cadmio la ingesta diaria media con los alimentos “se encuentran entre 10-40 µg. En zonas contaminadas se ha observado que alcanza cientos de µg al día. En zonas no contaminadas, la absorción debida al consumo de tabaco iguala la ingestión de cadmio a partir de los alimentos”(Lucho, 2005, p. 133).

1.7.4. Girasol (*Helianthus annuus*)

Helianthus annuus, llamado comúnmente girasol, es una planta herbácea anual de la familia de las asteráceas, pueden medir tres metros de alto. Los tallos son generalmente erectos e hispídos.

“El girasol (*Helianthus annuus*) es una planta ampliamente reconocida como fitorremediadora y en la cual se han desarrollado diversos estudios de germinación” (Mani, 2007, p. 71). reportaron que el girasol, por su alta capacidad radicular puede extraer del 10 al 25% de los metales del suelo, ya que estas plantas no son fácilmente afectadas por los contaminantes.

Su hábitat tiene origen en las regiones templadas de América del Norte aunque como cultivo se ha extendido mundialmente. Hallándose cultivos en la Península Ibérica, en México y Perú.

“Los niveles de crecimiento de esta especie en medios contaminados fueron superiores a los niveles de crecimiento de plantas que crecen bajo condiciones no contaminadas” (Mani, 2007, p. 79). “Esta especie absorbe metales pesados en grandes cantidades por

lo que se considera una planta hiperacumuladora para Cd, Zn, Pb y elementos radiactivos” (Christie, 2004, p. 209).

- **Usos del girasol**

En la antigüedad, la planta se cultivaba como ornamental, sin embargo desde el siglo pasado ha adquirido un valor comercial por las semillas. “El aceite refinado de girasol es comestible y algunos lo consideran equiparable por su calidad similar al de oliva. Sin refinar, se utiliza en la fabricación de jabones y velas” (Holt, 1992) .

Con el residuo sólido que queda después de extraer el aceite de las semillas se preparan unas tortas usadas como forraje para el ganado. Las semillas crudas se usan en mezclas de alimentación de aves, y las semillas tostadas se destinan para el consumo humano.

Se utiliza en muchos países como remedio casero, así, “las hojas y flores de la planta se emplea para enfermedades de la garganta y pulmonares. En Sudamérica se añade el extracto de flores y semillas al vino blanco como remedio para eliminar cálculos renales y vesiculares” (Holt, 1992, p. 63).

Se reporta que “algunas especies pertenecientes a las asteráceas, toleran altos niveles de metales pesados y se les ha propuesto como especies fitorremediadoras” (Davies, 2001, p. 777).

El girasol tiene la capacidad de “acumular altas concentraciones de uranio y cadmio en sus tejidos (principalmente tallo y raíz) con una razonable tolerancia, es por ello que el girasol se emplea en los procesos de fitorremediación acumulando y reciclando dichos metales” (Simona, 2006, p. 2683), excesivos de los suelos y promoviendo la limpieza ambiental.

1.7.5. Menta (*Mentha piperita*)

Mentha piperita, comúnmente llamada menta, monte yuyo o toronjil de menta, es un híbrido estéril obtenido del cruce de la menta acuática (*Mentha aquatica*) y la hierbabuena (*Mentha spicata*), que ocasionalmente se produce espontáneamente en las regiones templadas de Europa. Por su riqueza en componentes aromáticos se cultiva artificialmente desde el siglo XVII, cuando por primera vez se obtuvo de manera controlada en Inglaterra (Alonso, 1998, p. 121).

“Planta perenne, rizomatosa que crece en lugares encharcados y cursos de agua. La altura que puede alcanzar oscila de 40 a 80 centímetros. Con tallos de 25-70 cm. ascendentes y ramificados. Las flores son de color rosado” (Alonso, 1998). Tiene sus hojas lisas, de color verde intenso, opuestas, lanceoladas y con los bordes levemente dentados.

Su hábitat se extiende a lo largo de todo el mundo, prefiriendo los climas templados a los calurosos o fríos. “En Europa, aunque falta en Escandinavia, es bastante abundante, especialmente la variante *Mentha piperita* var. *rubescens*” (Alonso, 1998, p. 76).

- **Usos de la *Mentha piperita***

La destilación de la menta produce un “aceite rico en mentol, sustancia de valor comercial y ampliamente utilizada en la producción de alimentos como golosinas, lociones para afeitar, productos bucales, perfumes, etc. En aromaterapia se emplea como estimulante por un supuesto efecto energizante emocional” (Alonso, 1998, p. 129).

En el aspecto físico actúa como descongestionante, digestivo y refrescante. Está indicada para ayudar y facilitar las digestiones. Elimina los gases y flatulencias, alivia la acidez estomacal, disminuye los dolores, convulsiones, combate los mareos y náuseas. Su fuerte aroma despeja las vías respiratorias, por lo que resulta adecuada para los resfriados y problemas pulmonares.

1.7.6. Alfalfa (*Medicago sativa*)

Alfalfa, nombre científico es *Medicago sativa*, es una especie de planta herbácea perteneciente a la familia de las fabáceas o leguminosae. “Es perenne, de hasta 90 cm de alto o más. Su raíz se extiende el doble de su altura, las hojas son alternas, compuestas, trifoliadas, hasta de 17mm de largo, 3 folíolos. Flores de color entre azul y púrpura, su fruto es una vaina, que se enrolla en forma característica en espiral apretada” (Alonso, 1998, p. 134).

Es una planta utilizada en oriente medio, probablemente de Irán. “Se utiliza como pasto (forraje) principalmente para la alimentación de animales como caballos, vacas, conejos, cuyes, etc.” (Pozo, 2007, pág. 31) Gracias a su alto contenido de minerales como calcio, potasio, hierro, fósforo y vitaminas como C, D, E y K se la consume para tratar enfermedades como la anemia, artritis y artrosis.

En este caso su uso será para tratar un efluente contaminado, desarrollado en laboratorio, donde se evaluará la capacidad que tiene esta planta para asimilar el contaminante a diferentes concentraciones.

1.8. Semilla

La semilla es la estructura que contiene un embrión acompañado o no por tejido nutritivo y protegido por una cubierta seminal. Es la estructura que permite la supervivencia y dispersión en diferentes condiciones ambientales. Además representa un importante eslabón en la cadena alimenticia del ser humano y animales.

El desarrollo de la semilla consta de tres fases:

1. Sufre una serie de divisiones celulares que dan origen a los tejidos vegetativos y el embrión
2. Etapa de acumulación de sustancias de reserva
3. Reducción de la actividad metabólica, acompañada de la desecación de la semilla (Melgarejo, 2010, p. 33).

1.9. Germinación

“La germinación es el proceso mediante el cual una semilla se desarrolla hasta convertirse en una nueva planta” (Bidwell, 1990, pág. 18). Este proceso se lleva a cabo cuando el embrión se hincha y la cubierta de la semilla se rompe. Para lograr esto, toda nueva planta requiere de elementos básicos para su desarrollo: temperatura, agua, oxígeno y sales minerales.

En un sentido más general, la germinación puede implicar “todo lo que se expande en un ser más grande a partir de una existencia pequeña o germen. La germinación es un mecanismo de la reproducción sexual de las plantas” (Melgarejo, 2010, p. 37).

1.9.1. Etapas de la germinación

Es una secuencia de eventos que dan como resultado la transformación de un embrión en estado latente en una plántula. Estos eventos se describen a continuación:

- **Imbibición**

“Es el proceso de absorción de agua por la semilla. Se da por las diferencias de pH, entre la semilla y la solución de imbibición” (Melgarejo, 2010, p. 45).

Este proceso consta de tres fases: a) incremento rápido en la absorción de agua; b) fase de estabilización y movilización de nutrientes; c) absorción de agua que generalmente coincide con el proceso de germinación, como se indica en la figura 1.

Fases del proceso de germinación en *Phaseolus vulgaris*

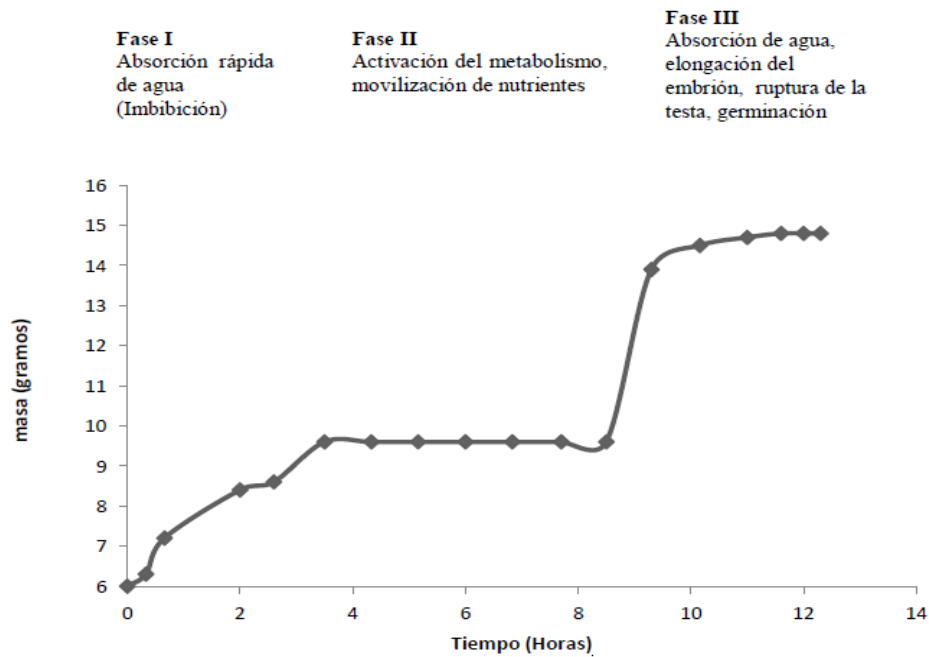


Figura 1. Ejemplo de las fases de germinación. Fuente: (Melgarejo, 2010, pág. 15)

La tasa de imbibición se ve afectada por varios factores que pueden determinar la respuesta para la germinación de las semillas, se presentan a continuación:

- Permeabilidad de la cubierta seminal: el caso más evidente es el de semillas cuyas cubiertas son totalmente impermeables al agua, por ejemplo las semillas duras de leguminosas, de algodón, etc.
- Concentración del agua: en general, la imbibición es más rápida cuando la semilla está en contacto con agua pura que cuando el agua contiene solutos.
- Presión hidrostática: conforme el agua penetra en las semillas, ésta provoca un aumento de volumen y presión en las membranas celulares.
- Área de la semilla en contacto con agua: la tasa de absorción de agua es proporcional a la magnitud del área de las semillas en contacto con el agua.
- Diferencias entre especies: “algunas especies absorben agua más rápidamente que otras. Ejemplo: semilla de algodón absorbe agua más lentamente que la semilla de frijol” (Melgarejo, 2010, p. 87).

- **Movilización de nutrientes**

Durante el proceso de germinación, “los nutrientes de la semilla, son convertidos en compuestos básicos como azúcares simples y aminoácidos que son transportados y oxidados para suplir el crecimiento y la elongación del embrión” (Taiz y Zeiger, 2006, pág. 15). Es decir que los nutrientes de la semilla sirvan de aporte energético para que la germinación se realice en condiciones adecuadas de crecimiento.

- **Efecto de la temperatura**

El proceso de germinación, como todos los procesos fisiológicos está afectado por la temperatura. Para cada clase de semillas existe una temperatura mínima y una máxima en la que ocurre la germinación. Además, dentro del rango “temperatura mínima-máxima, existe un punto en el que se obtiene máxima germinación y ésta ocurre rápidamente; este punto corresponde a la temperatura óptima. Estas temperaturas se conocen como las temperaturas cardinales de germinación” (Taiz y Zeiger, 2006, p. 23).

Se presenta el rango de temperaturas de germinación a continuación:

- Temperatura mínima: por debajo de esta temperatura los procesos de germinación no se pueden detectar visualmente, dentro de un período razonable de tiempo. Bajas temperaturas pero por encima del punto de congelación no son letales a las semillas.
- Temperatura máxima: es la temperatura por encima de la cual los mecanismos de germinación no operan y por lo tanto no se da crecimiento del embrión.
- Temperatura óptima: es la temperatura a la cual se da el porcentaje máximo de germinación en un mínimo de tiempo.

- **Presencia de oxígeno**

La presencia de oxígeno es un factor fundamental en la germinación de la semilla, debido a que entre el oxígeno y el agua se establece un proceso de competencia.

Esta relación competitiva se origina de la baja solubilidad del oxígeno en agua y de las diferencias tan notables que existen entre los coeficientes de difusión del oxígeno en el agua y en el aire.

“La actividad respiratoria de la semilla puede controlarse por la velocidad con la que el oxígeno llega a las mitocondrias de las células fisiológicamente activas de las semillas” (Taiz y Zeiger, 2006, p. 27).

- **Latencia**

El estado de dormición, latencia o letargo es definido como “la incapacidad de una semilla intacta y viable, de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentración de gases que serían adecuadas para la germinación” (Harmann, 1977, pág. 810).

Es importante determinar si se trata de un estado de latencia, ya que las semillas pueden detener su proceso de germinación debido a las condiciones desfavorables que encuentren en el proceso.

1.9.2. Evaluación de la calidad de la semilla

Es una prueba que se realiza sobre una muestra de semilla que sirve para estimar el porcentaje de semillas con capacidad para germinar.

La prueba de germinación se debe realizar antes de la siembra, ya que de las condiciones iniciales que tenga la semilla dependerá el porcentaje de germinación, si al realizar la prueba, el porcentaje de germinación es menor del 80 por ciento, se considera que la semilla no es de buena calidad y es mejor utilizarla para el consumo. Un bajo porcentaje de germinación significa que el manejo de la semilla desde la cosecha hasta el almacenamiento no fue el adecuado.

Si los resultados de la “prueba de germinación antes de la siembra es inferior del 80 % y superior al 60 % se pueden tomar dos decisiones: Cambiar el material de siembra o incrementar la cantidad de semilla para siembra” (Melgarejo, 2010).

1.9.3. Determinación de cadmio método de la ditizona

El cadmio bajo condiciones apropiadas reacciona con la ditizona (difeniltiocarbazona), con la formación de un complejo coloreado o quelato de color rosado a rojo que puede ser extraído cuantitativamente de un medio-acuoso con cloroformo. En la capa orgánica puede determinarse espectrofotométricamente el cadmio, y la concentración se obtiene a partir de una curva de calibración preparada con soluciones patrón tratadas de la misma forma que la muestra.

1.10. Ubicación

- **Ubicación Política y territorial**

Tabla 3.

Ubicación territorial

País	Ecuador
Provincia	Pichincha
Cantón	Quito
Lugar	Laboratorio del Centro de Valoración de la Biodiversidad (CIVABI) de la Universidad Politécnica Salesiana Campus Sur

Nota: Descripción de la ubicación donde se desarrollará la investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

1.11. Condiciones Agroecológicas

Tabla 4.

Condiciones de temperatura

Temperatura	De acuerdo al pronóstico actual del tiempo el Distrito Metropolitano de Quito, presenta una temperatura máxima de 21°C y una temperatura mínima de 11,2°C.
--------------------	--

Nota: temperatura ambiente donde se desarrollará la investigación

Fuente:(INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGÍA E HIDROLOGÍA, 2014, pág. 1)

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

La presente investigación estuvo conformada por un experimento, aplicado a tres especies vegetales, en el laboratorio, y los materiales que se utilizaron se describen a continuación:

Tabla 5.
Materiales para la investigación

Material Biológico	
<ul style="list-style-type: none"> Semillas de girasol (<i>Helianthus annuus</i>), Semillas de menta (<i>Mentha piperita</i>) Semillas de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) 	
Material de laboratorio	
<ul style="list-style-type: none"> Tubo de ensayo Vaso de precipitación de 50 y 1000 ml Cajas Petri Pipetas volumétricas de 1, 2, 5 y 10 ml. Calibrador electrónico. Pinzas. 	<ul style="list-style-type: none"> Toallas de papel. Bolsas plásticas Solución nutritiva (azufre, boro, hierro, manganeso, cobre, zinc) Sustrato inerte (esponjas) Papel filtro de poro fino

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Para la determinación de cadmio (Cd), se requirió el uso de equipos y reactivos específicos, los mismos que se indican a continuación:

Tabla 6.
Equipos y Reactivos

Equipos	
<ul style="list-style-type: none"> Conductímetro Turbidímetro Potenciómetro de pH Digital Balanza analítica con precisión de 0,1 mg. Espectrofotómetro. Para usar a 518 nm con un trayecto de luz de 1 cm. 	
Reactivos	
<ul style="list-style-type: none"> Ácido clorhídrico concentrado Agua destilada Tartrato de sodio y potasio 	<ul style="list-style-type: none"> Acetona Difenil- carbazona Azul de timol

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

2.2. Métodos

2.2.1. Diseño Experimental

2.2.2. Tipo de Diseño Experimental

En la presente investigación se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), en arreglo factorial 4 x 4; cuatro niveles del factor A (especie vegetal) por cuatro niveles del factor B (concentración de cadmio), con seis repeticiones.

2.2.3. Concentraciones

Tabla 7.

Concentraciones de cadmio utilizadas

Factor B: Concentraciones de Cadmio
C1: 10 ppm
C2: 40 ppm
C3: 50 ppm
C4: 60 ppm

2.2.4. Unidad Experimental

La Unidad Experimental (UE) consistió en frascos de vidrio de 1 litro de volumen conteniendo la solución nutritiva para la planta, y esponjas de poliuretano para la sujeción de las plántulas. La disposición de los tratamientos en las unidades experimentales se describen a continuación:

- **Disposición de las semillas de girasol (*Helianthus annuus*) en las UE**

Previamente se distribuyó en un sustrato artificial, 10 semillas de girasol (*Helianthus annuus*), de las cuales resultó varios brotes de girasol, al conjunto de brotes, se denominó “Módulos”. Es decir el conjunto de 10 brotes, conformaron una unidad de módulo de girasol, que se encontraban distribuidos en bandejas plásticas, con sus respectivas repeticiones y grados de concentración.

- **Disposición de las semillas de Menta (*Mentha piperita*) en las UE**

Previamente se distribuyó en un sustrato artificial, 10 semillas de menta (*Mentha piperita*), de las cuales resultaron varios brotes, a esta cantidad de brotes, se las denominó “Módulos”. Es decir el conjunto de 10 brotes de menta, conformaron una unidad de módulo de menta, los mismos que se encontraban distribuidos en bandejas plásticas, con sus respectivas repeticiones y grados de concentración.

- **Disposición de las semillas de Alfalfa (*Medicago sativa*) en las UE**

Previamente se distribuyó en un sustrato artificial, 10 semillas de alfalfa (*Medicago sativa*), de las cuales resultó varios brotes, a estos se los denominó “Módulos”. Es decir el conjunto de 10 brotes de alfalfa conformaron una unidad de módulo de alfalfa, los mismos que se encuentran distribuidos en bandejas plásticas, con sus respectivas repeticiones y grados de concentración.

2.2.5. Variables y métodos de evaluación

- **Longitud de la raíz**

Transcurridos tres días posteriores a la germinación de las semillas de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), se procedió a medir el crecimiento de la raíz en mm, utilizando un calibrador digital.

Las mediciones se realizaron a los 3, 5, 7, 10, 15, 30 y 45 días, tomando en consideración que la medida de elongación de la radícula se considera desde el cuello de la plántula (región más engrosada de transición entre la radícula y tallo) hasta la cofia. Como se describe en la siguiente figura:

Estructura de la raíz

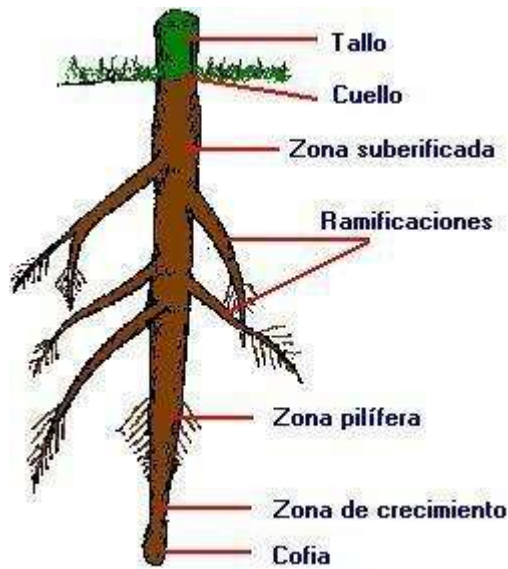


Figura 2. Zona de la raíz. Fuente: (Valla, 2004)

- **Longitud del tallo**

Transcurridos 10 días posteriores a la germinación de las semillas de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), se procedió a medir la longitud del tallo en mm, usando un calibrador digital, las mediciones se realizaron con una periodicidad de 5 días, hasta alcanzar los 45 días de la investigación.

La longitud del tallo se midió desde el cuello del tallo hasta la yema apical de la plántula.

Estructura del tallo

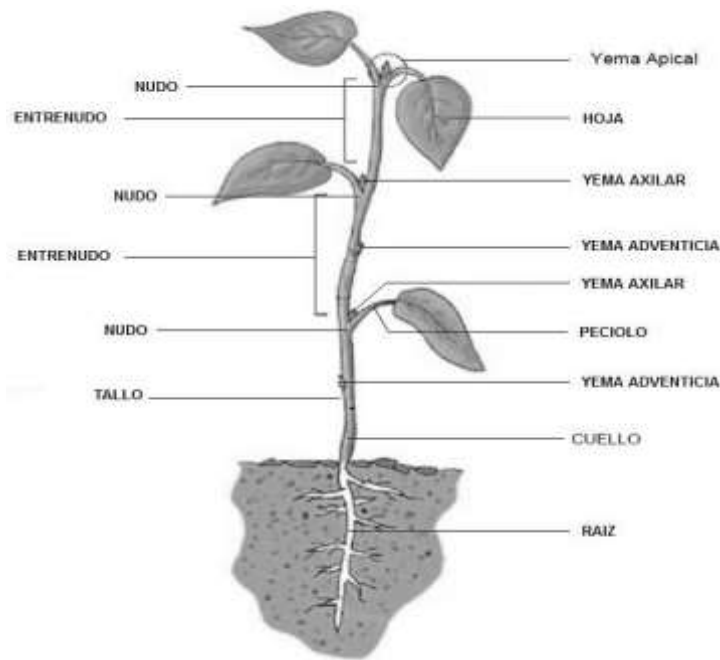


Figura 3. (López, 1995, p. 273)

Alteración fisiológica

Se realizaron observaciones para el girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), con una periodicidad de 15, 30 y 45 días. Los cambios fisiológicos observados fueron: inhibición del crecimiento de la raíz, retraso del crecimiento de la planta y clorosis, cambios que se producen según Burton (1984) en la toxicidad por metales pesados en las plantas.

Para las variables descritas, se tomó como referencia la plántula mejor desarrollada de todas las repeticiones de cada concentración (24 repeticiones), y se comparó con el resto, indicando qué plántula experimentó alteración fisiológica, los resultados se presentaron en porcentaje de afectación.

• Potencial hidrógeno

Se realizó las mediciones del pH, utilizando un potenciómetro de pH digital, los controles se efectuaron cada 15 días hasta la finalización de la investigación.

- **Absorción de Cadmio**

Utilizando la norma técnica INEN para análisis de aguas - Determinación de cadmio método de la ditizona, se procedió a analizar la muestra de agua en estudio, El contenido de cadmio en el agua, se lo midió mediante el uso de un espectrofotómetro de 518 nm, equipado con celdas de 1 cm de paso óptico de luz. La medición se realizó cada 15 días durante toda la investigación.

2.3. Pruebas de significancia

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante un Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial 4 x 4; cuatro niveles A (Especie vegetal) por cuatro niveles B (concentración de contaminante), con seis repeticiones.

Con los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza y la prueba de separación de medias seleccionada es la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95% ($\alpha=0,05$), esta prueba permitió establecer las diferencias entre medias de tratamientos del experimento.

2.4. Croquis del experimento

Nomenclatura:

E1: Girasol (*Helianthus annuus*)

E2: Menta (*Mentha piperita*)

E3: Alfalfa (*Medicago sativa*)

E4: Sin Especie

Factor A

C1: Concentración de contaminante 10 ppm

C2: Concentración de contaminante 40 ppm

C3: Concentración de contaminante 50 ppm

C4: Concentración de contaminante 60 ppm

Factor B

Tabla 8.

Croquis del experimento

Fac.	C1		C2		C3		C4	
E1	E ₁ C ₁ R ₁	E ₁ C ₁ R ₄	E ₁ C ₂ R ₁	E ₁ C ₂ R ₄	E ₁ C ₃ R ₁	E ₁ C ₃ R ₄	E ₁ C ₄ R ₁	E ₁ C ₄ R ₄
	E ₁ C ₁ R ₂	E ₁ C ₁ R ₅	E ₁ C ₂ R ₂	E ₁ C ₂ R ₅	E ₁ C ₃ R ₂	E ₁ C ₃ R ₅	E ₁ C ₄ R ₂	E ₁ C ₄ R ₅
	E ₁ C ₁ R ₃	E ₁ C ₁ R ₆	E ₁ C ₂ R ₃	E ₁ C ₂ R ₆	E ₁ C ₃ R ₃	E ₁ C ₃ R ₆	E ₁ C ₄ R ₃	E ₁ C ₄ R ₆
E2	E ₂ C ₁ R ₁	E ₂ C ₁ R ₄	E ₂ C ₂ R ₁	E ₂ C ₂ R ₄	E ₂ C ₃ R ₁	E ₂ C ₃ R ₄	E ₂ C ₄ R ₁	E ₂ C ₄ R ₄
	E ₂ C ₁ R ₂	E ₂ C ₁ R ₅	E ₂ C ₂ R ₂	E ₂ C ₂ R ₅	E ₂ C ₃ R ₂	E ₂ C ₃ R ₅	E ₂ C ₄ R ₂	E ₂ C ₄ R ₅
	E ₂ C ₁ R ₃	E ₂ C ₁ R ₆	E ₂ C ₂ R ₃	E ₂ C ₂ R ₆	E ₂ C ₃ R ₃	E ₂ C ₃ R ₆	E ₂ C ₄ R ₃	E ₂ C ₄ R ₆
E3	E ₃ C ₁ R ₁	E ₃ C ₁ R ₄	E ₃ C ₂ R ₁	E ₃ C ₂ R ₄	E ₃ C ₃ R ₁	E ₃ C ₃ R ₄	E ₃ C ₄ R ₁	E ₃ C ₄ R ₄
	E ₃ C ₁ R ₂	E ₃ C ₁ R ₅	E ₃ C ₂ R ₂	E ₃ C ₂ R ₅	E ₃ C ₃ R ₂	E ₃ C ₃ R ₅	E ₃ C ₄ R ₂	E ₃ C ₄ R ₅
	E ₃ C ₁ R ₃	E ₃ C ₁ R ₆	E ₃ C ₂ R ₃	E ₃ C ₂ R ₆	E ₃ C ₃ R ₃	E ₃ C ₃ R ₆	E ₃ C ₄ R ₃	E ₃ C ₄ R ₆
SE	E ₄ C ₁ R ₁	E ₄ C ₁ R ₄	E ₄ C ₂ R ₁	E ₄ C ₂ R ₄	E ₄ C ₃ R ₁	E ₄ C ₃ R ₄	E ₄ C ₄ R ₁	E ₄ C ₄ R ₄
	E ₄ C ₁ R ₂	E ₄ C ₁ R ₅	E ₄ C ₂ R ₂	E ₄ C ₂ R ₅	E ₄ C ₃ R ₂	E ₄ C ₃ R ₅	E ₄ C ₄ R ₂	E ₄ C ₄ R ₅
	E ₄ C ₁ R ₃	E ₄ C ₁ R ₆	E ₄ C ₂ R ₃	E ₄ C ₂ R ₆	E ₄ C ₃ R ₃	E ₄ C ₃ R ₆	E ₄ C ₄ R ₃	E ₄ C ₄ R ₆

Elaborado por: Elizabeth Panchi

CAPÍTULO 3

MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

3.1. Obtención, control y conservación de las semillas

La obtención de semillas de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), se realizó en centros de productos agrícolas, procurando que las semillas sean sin curar (sin fungicidas o plaguicidas), con alto poder germinativo y baja variabilidad en la elongación de la radícula. Las semillas seleccionadas se almacenaron por un período corto, en oscuridad y en ambiente seco, para no alterar su poder de germinación.

Semillas de girasol, alfalfa y menta, previo al tratamiento

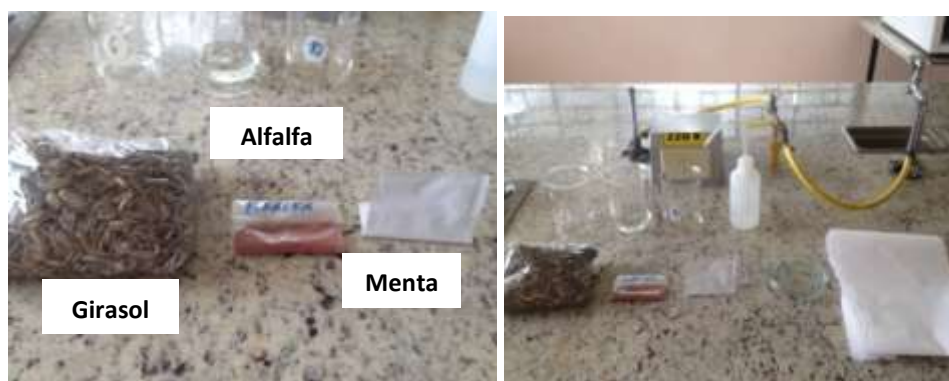


Figura 4. Semillas y materiales de la investigación.

Elaborador por: Elizabeth Panchi

3.2. Prueba de germinación de las semillas

Es una prueba que se realizó para estimar el porcentaje de semillas con capacidad para germinar. La prueba se realizó con los tres tipos de semillas seleccionadas, es decir de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), para cada tipo de semilla se procedió de la siguiente manera:

- Se tomó una muestra aleatoria de semillas del recipiente donde se encontraban almacenadas, de esta muestra se seleccionó 30 semillas al azar.

- Se colocó las semillas en una caja petri, y se procedió a cubrirlas con papel absorbente, al cual posteriormente, se le agregó agua destilada para humedecer el medio.

Semillas de girasol, menta y alfalfa, inicio prueba de germinación

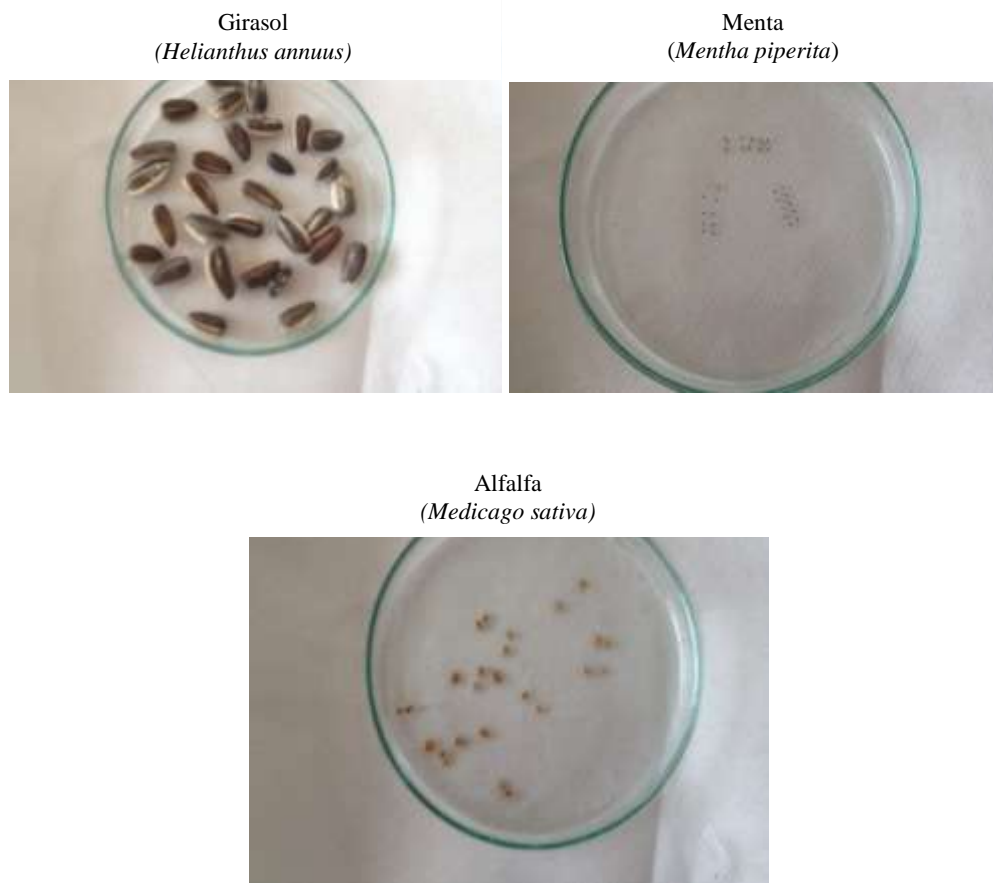


Figura 5. Elizabeth Panchi

- Las cajas Petri que contienen las semillas, se cubrirán con un plástico oscuro, y se hidrataran con agua destilada diariamente, durante el periodo de germinación que dura aproximadamente 6 a 8 días.

Semillas de girasol, menta y alfalfa hidratadas para germinación



Figura 6. Elizabeth Panchi

Semillas de girasol, menta y alfalfa cubiertas con plástico negro



Figura 7. Elizabeth Panchi

- Después de este periodo se procedió a contar las plántulas que emergieron y se determinó el porcentaje de germinación de la semilla que es igual a:

$$\% \text{ Germinacion} = \frac{N^{\circ} \text{ de plántulas que emergieron}}{N^{\circ} \text{ total de semillas seleccionadas}} \times 100$$

El porcentaje de germinación nos indica la capacidad que tiene la semilla de germinar, “si el resultado es menor del 80 por ciento, la semilla no es de buena calidad y es mejor no utilizarla para la investigación” (Melgarejo, 2010).

Un bajo porcentaje de germinación significa que el manejo de la semilla desde la cosecha hasta el almacenamiento no fue el adecuado.

Si el resultado de la prueba de germinación es “inferior al 80 % y superior al 60 % se pueden tomar dos decisiones: Cambiar el material de siembra por uno de mejor calidad o incrementar la cantidad de semilla para siembra” (Melgarejo, 2010).

Porcentaje de germinación de la semilla girasol



Figura 8. Elizabeth Panchi

Porcentaje de germinación de la semilla de menta



Figura 9. Elizabeth Panchi

Porcentaje de germinación de la semilla de alfalfa



Figura 10. Elizabeth Panchi

3.3. Preparación de la solución de cadmio

La solución de cadmio se preparó de acuerdo a la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2 169:98, (Anexo 1).

3.3.1. Preparación de las diluciones

La preparación de las disoluciones de cadmio, se realizaron a partir de la solución de cadmio madre, mencionada en el punto anterior.

Para realizar una curva dosis respuesta, la norma NTE INEN 2 169:98, recomienda preparar un mínimo de 4 o 5 diluciones de la muestra de cadmio, de manera que se obtengan valores de toxicidad intermedios entre el 100 y 0%. Para evaluar la toxicidad se realizó cuatro diluciones (50%, 43%, 33%, 20%):

Las concentraciones de cadmio seleccionadas, formaron una mezcla homogénea con la solución nutritiva que se describe más adelante. Esta mezcla se puso en contacto con las semillas en el proceso de germinación, y posteriormente con las plántulas en su etapa de crecimiento.

Preparación de la solución madre de sulfato de cadmio



Figura 11. La investigación Imagen: Elizabeth Panchi

Diluciones de sulfato de cadmio



Figura 12. La investigación Imagen: Elizabeth Panchi

3.3.2. Preparación de la solución nutritiva

De acuerdo a las concentraciones de cadmio que se aplicaron a las semillas de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), es necesario contar con un nutriente para las plántulas, que aporte las condiciones necesarias para su crecimiento y desarrollo.

“Estos requerimientos nutricionales son necesarios debido a que se trata de un crecimiento hidropónico, es decir un cultivo sin suelo, donde los aportes nutricionales serán obtenidos mediante la aplicación de un suero comercial” apto para este tipo de cultivos. A continuación se describe el suero utilizado en la investigación (Calderón, 2001):

Tabla 9.

Información nutricional del suero adecuado para la hidroponía

Microelementos	(g/l)
Azufre en sulfatos	40
Boro	10,15
Hierro	0,45
Manganeso	0,40
Cobre	0,22
Zinc	10
Macroelementos	(gr/l)
Nitrógeno total	16%
Fósforo	16%
Potasio	12%

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Los valores nutricionales que aporta este producto, sirven como complemento para el desarrollo de la planta. A continuación se presenta las concentraciones finales del contaminante:

Tabla 10.

Concentraciones para las diluciones de cadmio

Concentraciones	Solución nutritiva		Sulfato de cadmio	
	(ml)	%	(ml)	%
C1	1000	80	250	20
C2	1000	67	500	33
C3	1000	57	750	43
C4	1000	50	1000	50

Elaborado por: Elizabeth Panchi

3.4. Elaboración de los cultivos hidropónicos

Utilizando semilleros que contienen espuma de poliuretano (esponja), se colocaron las semillas de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), para iniciar el proceso de germinación, estas esponjas previamente se humedecieron con las concentraciones de cadmio y solución nutritiva antes mencionadas (ver tabla 9); y se cubrieron con plástico negro por un periodo de 6 a 8 días, tiempo donde las semillas han germinado, y las primeras plántulas comenzaron a aparecer.

Espuma de poliuretano, sustrato para las semillas



Figura 13. Elizabeth Panchi

Distribución de las semillas de girasol en el sustrato.

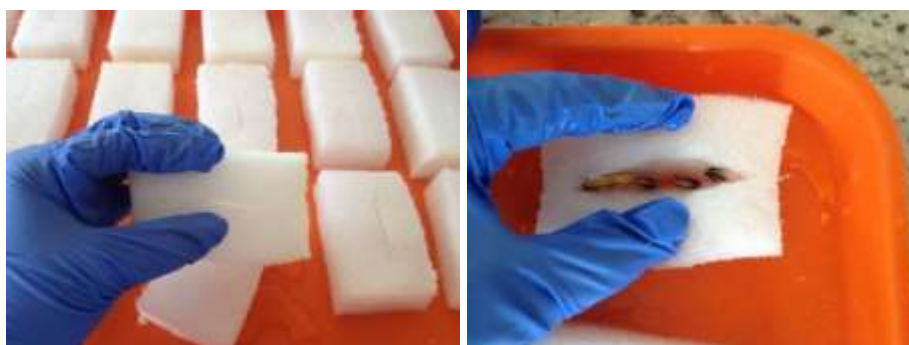


Figura 14. Elizabeth Panchi

Se trasladaron a las plántulas a bandejas de mayor tamaño para facilitar el crecimiento máximo de las plantas. Hay que tomar en cuenta que la solución hidropónica de la cual la planta se alimentó hasta alcanzar su nivel máximo de crecimiento, es la solución compuesta por las concentraciones de cadmio y solución nutritiva antes mencionadas.

3.5. Evaluación de la fitotoxicidad

Cada medición se realizó con una periodicidad de 15, 30, 45 días, donde se comparó el efecto generado en las semillas expuestas a la muestra con el contaminante, de acuerdo a las condiciones iniciales que tenían las semillas hasta alcanzar el desarrollo total de la plántula.

Durante el período de exposición, se procedió a cuantificar el efecto en la germinación, en el crecimiento de la radícula; así como su desarrollo. Se procedió como se indica a continuación:

3.5.1. Efecto en la germinación

Se registró el número de semillas que germinaron normalmente, considerando como criterio de germinación, la aparición visible de la radícula(Romero, 1990).

Germinación de la semilla de girasol



Figura 15. Elizabeth Panchi

3.5.2. Efecto en el crecimiento de la radícula

Utilizando un calibrador digital, se midió cuidadosamente la longitud de la radícula de cada una de las plántulas correspondientes a cada concentración de dilución de muestra con cadmio.

Elongación de la radícula



Figura 16. Elizabeth Panchi

La medida de crecimiento de la radícula se considera desde el cuello de la plántula (región más engrosada de transición entre la radícula y tallo) hasta la cofia.

3.5.3. Crecimiento de la raíz y tallo

Una vez que las plántulas se desarrollaron, se midió el tamaño del tallo, raíces, número de hojas, los controles se realizaron cada cinco días, durante la investigación.

Control del crecimiento de tallo de las semillas seleccionadas

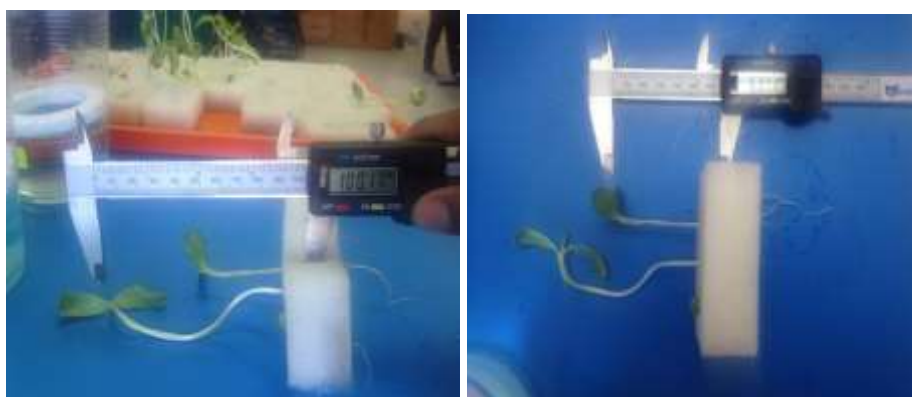


Figura 17. Elizabeth Panchi

Control del crecimiento de hojas y raíz de las semillas seleccionadas

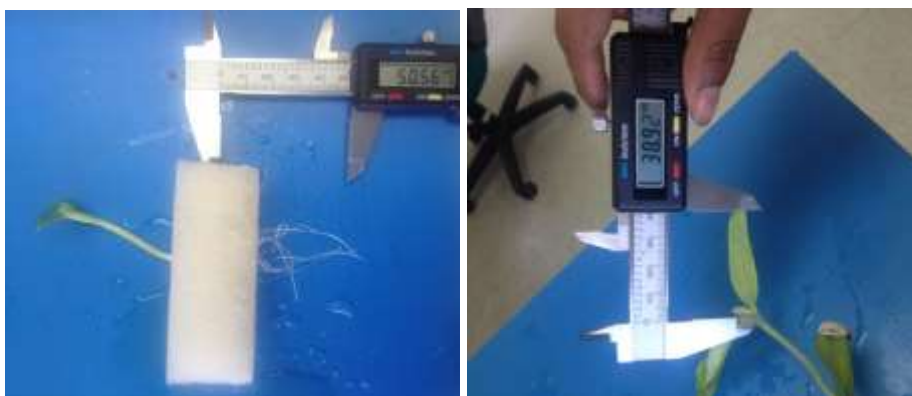


Figura 18. Elizabeth Panchi

3.5.4. Tratamiento de los Resultados

El tratamiento estadístico de los datos de la investigación, se lo realizó utilizando un software estadístico.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar el efecto que tuvo el contaminante sobre las semillas de las especies de girasol, menta y alfalfa, se realizó previamente una prueba de germinación en un medio natural, libre de cadmio, donde se observó los cambios generados y se obtuvo los resultados que se indican en la tabla 11.

Tabla 11.

Porcentaje de germinación entre especies – sin cadmio

Especie	Plántulas que emergieron	Semillas seleccionadas	Porcentaje de germinación
Alfalfa	30	30	100
Girasol	25	30	83
Menta	30	30	100

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

El porcentaje de germinación de las semillas supera el 80%, que indica la capacidad que tuvieron las semillas para germinar y la calidad de las mismas.

4.1.Efecto en la germinación

El porcentaje de germinación que se produjo en las semillas de girasol, menta y alfalfa en un medio sin contaminante, fue del 100% para las especies de alfalfa y menta.

Comparando los valores de la tabla 12, donde las semillas de girasol, menta y alfalfa se encuentran en un medio contaminado, se reporta una reducción en la germinación. Este comportamiento se puede atribuir a la absorción del cadmio en las semillas, que afecta el desarrollo y crecimiento de la plántula. Como se realizó en otras investigaciones similares, con diferentes niveles de concentración de metales pesados, no se han reportado diferencias (Madrid, 2006), pero si tendencias en la germinación al incrementar la dosis de concentración.

Tabla 12.

Porcentajes de germinación entre especies – con cadmio

Porcentaje de germinación (%)			
	Girasol Girasol (<i>Helianthus annuus</i>)	Menta Menta (<i>Mentha piperita</i>)	Alfalfa Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)
C1	79	93	93
C2	88	92	90
C3	83	90	92
C4	96	92	93

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

No obstante existe una variación de crecimiento, observándose un 96% de germinación de las semillas de girasol expuestas a una concentración mayor de cadmio, lo cual coincide con el trabajo de Krämer (2006), donde indica que una planta puede protegerse del contaminante, formando complejos metálicos estables menos tóxicos con quelantes y/o secuestrando los metales desde zonas con un metabolismo activo (citoplasma) hacia el interior de vacuolas o en la pared celular, donde no puedan ocasionar efectos adversos. Por ello, el autor concluye que la tolerancia en las plantas no viene determinada por la acción de un solo mecanismo interno, sino de varios, que actuarían conjuntamente.

4.2.Crecimiento de la raíz y tallo

- Las plántulas de girasol (*Helianthus annuus*), experimentan un crecimiento proporcional a las concentraciones a las que fue expuesto como se indica en la tabla 13, donde el efecto del metal sobre la plántula varía de acuerdo a la concentración del cadmio.

Tabla 13.

Longitud del crecimiento y desarrollo de la raíz de girasol

Longitud de la raíz de girasol (mm)				
Días	Concentraciones			
	C1	C2	C3	C4
3	0,62	0,63	0,59	0,59
5	1,90	1,87	1,84	1,83
7	5,37	5,84	5,58	6,17
10	12,21	11,97	11,98	12,36
15	24,77	26,16	28,27	28,09
20	52,57	51,01	51,27	53,53
25	76,54	75,09	77,02	74,13
30	91,69	90,70	90,66	90,50
35	100,93	105,64	103,26	105,35
40	132,43	140,59	145,66	137,82
45	154,88	153,15	153,67	151,61

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

El efecto del cadmio sobre las plántulas es mínimo debido a su crecimiento continuo, destacando la concentración uno, que experimentó menores cambios con respecto al resto, debido a que su concentración es de 10 ppm de cadmio. El girasol (*Helianthus annuus*) es la especie que absorbe los metales pesados en mayor cantidad acumulándose más en sus raíces, por lo que se considera una planta hiperacumuladora favorable en la fitoextracción de Cd, Zn, Pb y elementos radiactivos (Christie et al., 2004).

A continuación se presenta la figura 19, donde se observa la tendencia de crecimiento que experimentó la plántula de girasol.

Evolución del crecimiento radicular de la plántula de girasol

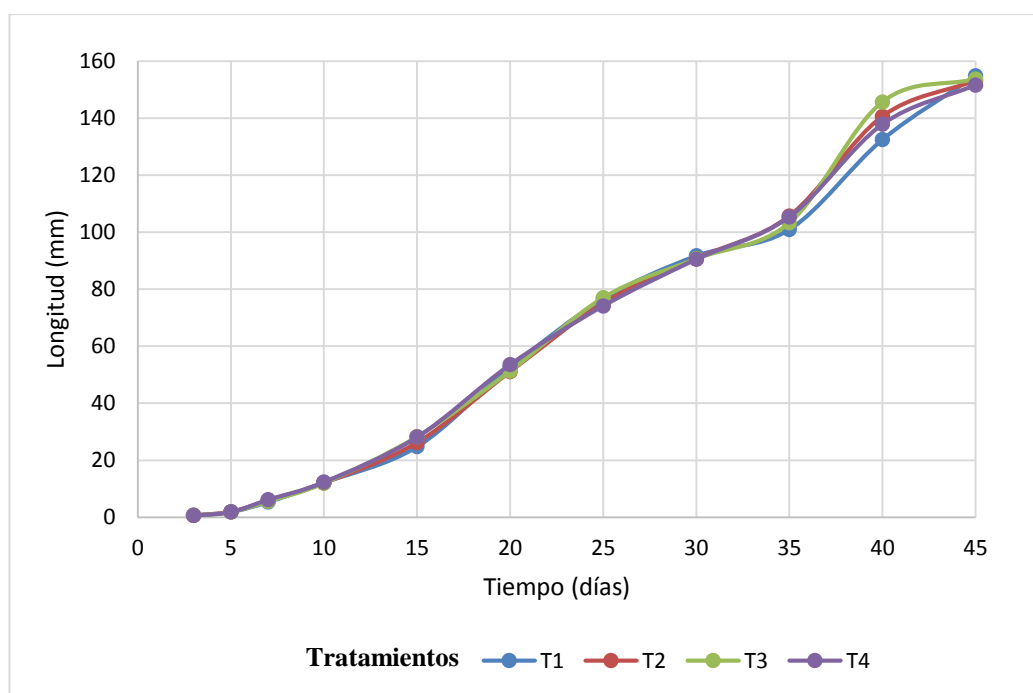


Figura 19. La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la tabla 14 se presentan los resultados del crecimiento del tallo, donde se muestra que el efecto por la exposición al cadmio no produjo cambios relevantes en los primeros días, observándose un retardo en el crecimiento a los 15 días de contacto.

La concentración cuatro reportó un crecimiento máximo de 140.10 mm a los 45 días de contacto, indicando que en la raíz de la plántula se acumuló, gran parte del cadmio para las diferentes concentraciones. En un estudio realizado por Brown & Chaney (1994), donde se determinó los efectos de cadmio y zinc en plantas, se concluyó que éstas pueden absorber grandes cantidades de metales, pero las raíces generalmente acumulan la mayor parte del metal, observándose esta tendencia en el presente estudio.

Tabla 14.

Longitud del tallo de la plántula de girasol

	Longitud del tallo de girasol (mm)			
Días	Concentraciones			
	C1	C2	C3	C4
3	22,38	22,87	22,43	22,41
5	52,89	50,29	49,08	49,16
7	81,99	81,46	82,44	83,01
10	92,15	91,87	95,05	94,61
15	108,70	118,91	117,33	122,05
20	123,37	123,35	126,39	131,02
25	125,57	127,45	129,57	133,39
30	127,24	133,72	134,66	139,23
35	127,82	135,70	135,10	139,81
40	128,52	135,70	135,10	139,81
45	128,52	135,70	136,25	140,10

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

A continuación en la figura 20 se presenta la tendencia de crecimiento de tallo que experimento la plántula de girasol.

Longitud del tallo de la plántula de girasol

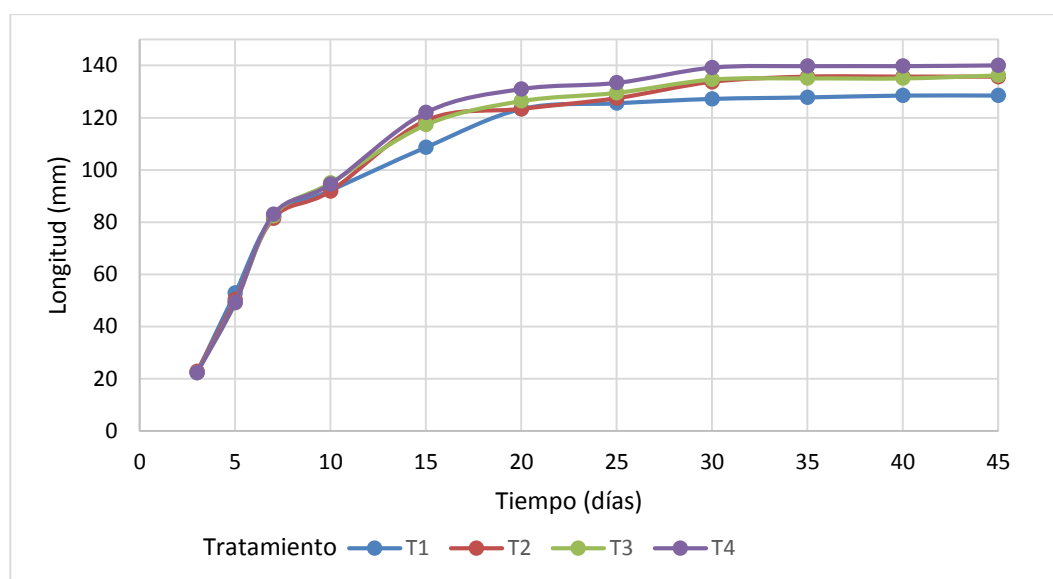


Figura 20. La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

- En la tabla 15 se indica el crecimiento radicular de las plántulas de menta, y comparándola con las especies de girasol y alfalfa, ésta presentó un menor crecimiento, es decir, debido a su naturaleza, la semilla de menta no crece mayormente. Es así que su elongación máxima se produjo en la concentración tres, al día 45, con una longitud de 112.29 mm. Recordemos que la concentración tres contiene 50 ppm de cadmio, lo que muestra la capacidad de la raíz de asimilar el metal en concentraciones elevadas.

Tabla 15.

Longitud del crecimiento y desarrollo de la raíz de menta

Días	Longitud de la raíz de menta (mm)			
	Concentraciones			
	C1	C2	C3	C4
3	0,80	0,83	0,73	0,70
5	1,45	1,51	1,23	1,28
7	3,49	3,45	3,33	3,17
10	9,99	10,01	9,34	11,15
15	19,75	21,33	17,33	21,04
20	33,07	31,80	27,96	32,40
25	60,00	56,10	59,71	57,54
30	60,49	57,20	60,22	58,18
35	88,87	87,28	90,28	85,80
40	89,55	88,12	90,63	83,82
45	107,21	105,20	112,29	107,27

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

El crecimiento de la raíz aumentó de acuerdo al tiempo de exposición con el contaminante. A partir del día 10, aumenta la longitud de la raíz de forma acelerada, confirmando la característica de asimilación que tiene la raíz, en nuestro caso la asimilación fue del metal presente en la muestra de agua, como se indica en la figura 21.

Evolución del crecimiento radicular de la plántula de menta

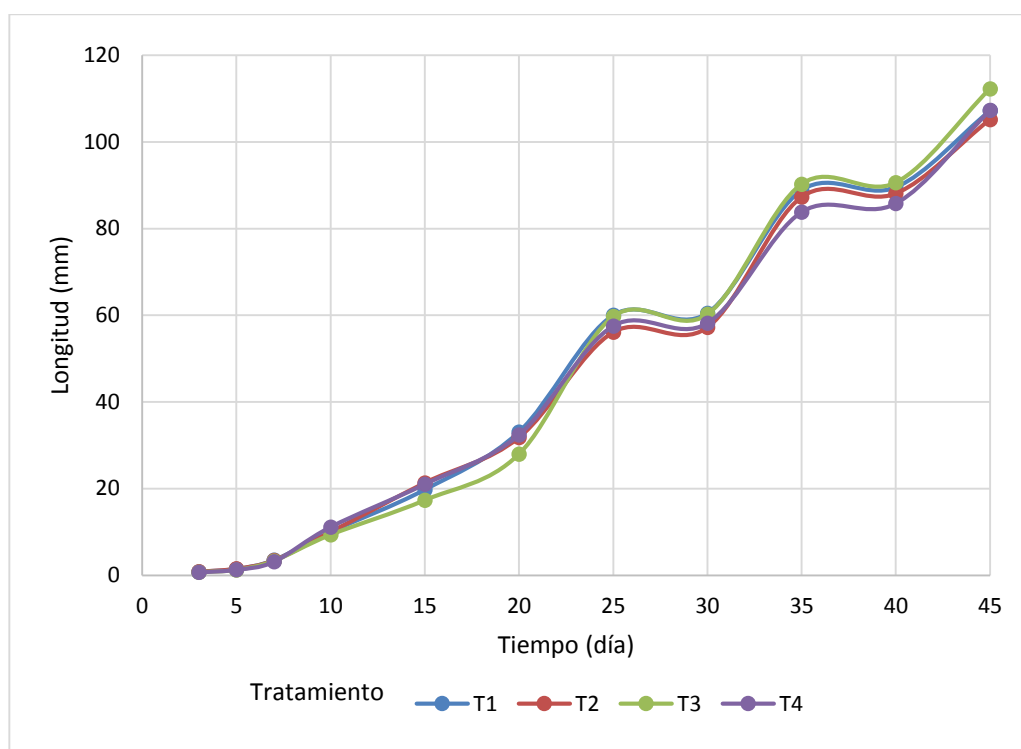


Figura 21. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la tabla 16, se muestra que el mayor crecimiento del tallo se produjo cuando la plántula se encuentra en la concentración tres, donde la longitud del tallo fue de 7.29 mm, medido a los 45 días de exposición.

Así, al tener una mayor concentración de cadmio, este ejerce sobre la planta un efecto estimulante, que permite que la planta se desarrolle, como lo indica Calow (1993) en su informe sobre ecotoxicología en especies vegetales.

Tabla 16.

Longitud del tallo de la plántula de menta

	Longitud del tallo de menta (mm)			
Días	Concentraciones			
	C1	C2	C3	C4
3	0,14	0,15	0,14	0,14
5	0,16	0,16	0,16	0,16
7	0,17	0,18	0,17	0,17
10	0,41	0,42	0,59	0,52
15	0,90	0,93	1,19	1,22
20	1,54	1,47	1,73	1,70
25	2,35	2,41	3,04	2,72
30	3,42	3,04	3,72	3,60
35	4,61	4,01	5,27	4,73
40	5,89	6,11	6,93	6,29
45	6,64	6,67	7,29	6,81

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la figura 22 se presenta el crecimiento del tallo que de acuerdo al tiempo de exposición, existió una variación hasta el día 10. El crecimiento de las plántulas fue relativamente constante. A partir de este período, se observa un aumento en la longitud del tallo, así tenemos que en la concentración tres, la longitud del tallo es de 7.29 mm, medida a los 45 días de exposición con el metal.

Longitud del tallo de la plántula de menta

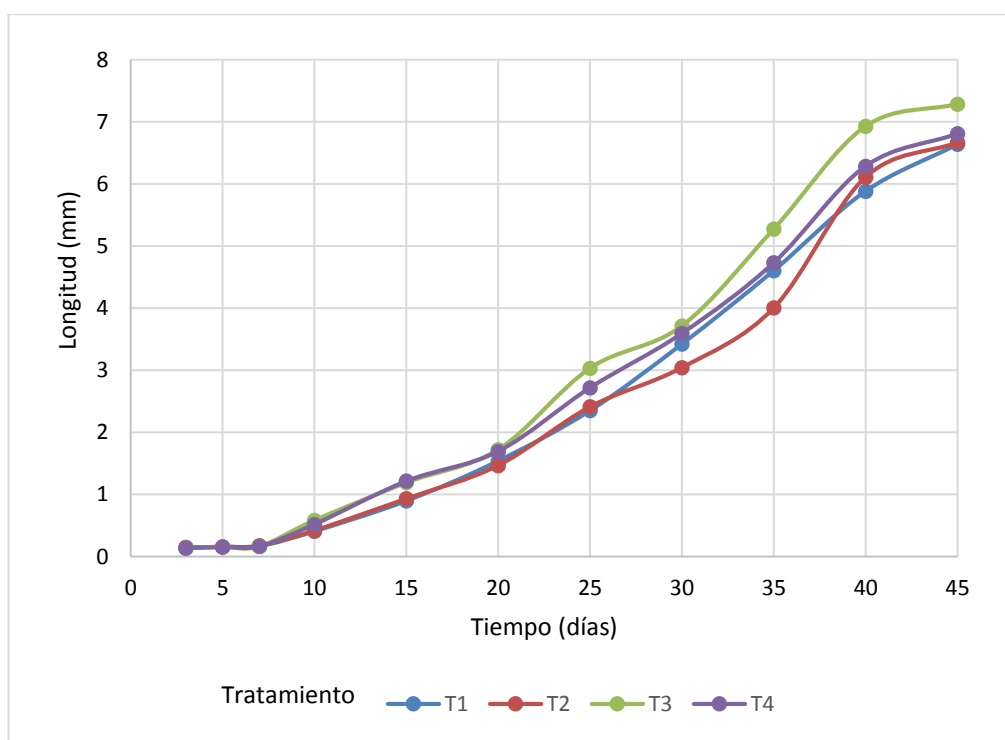


Figura 22. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

- En la tabla 17, se indica el crecimiento radicular de las plántulas de alfalfa, de acuerdo a la concentración a la que fueron expuestas. Así, su mayor elongación fue en la concentración tres, el día 45, con una longitud de 55.84 mm. Recordemos que la concentración tres contiene 50 ppm de cadmio, lo que muestra la capacidad de la raíz de asimilar el metal en concentraciones elevadas.

Tabla 17.

Longitud del crecimiento y desarrollo de la plántula de alfalfa.

	Longitud de la raíz de alfalfa (mm)			
Días	Concentraciones			
	C1	C2	C3	C4
3	0,38	0,40	0,41	0,54
5	0,41	0,42	0,44	0,43
7	0,45	0,45	0,49	0,48
10	1,63	1,75	2,59	1,77
15	6,09	6,68	6,56	6,82
20	13,76	12,78	13,90	18,18
25	26,20	26,86	30,35	31,38
30	46,93	48,43	49,96	45,95
35	52,30	54,32	54,54	51,78
40	53,24	54,83	55,26	52,75
45	53,79	55,37	55,84	53,37

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

En la figura 23, se presenta el crecimiento radicular que experimentó la plántula, de acuerdo al tiempo de exposición con las concentraciones de cadmio.

Evolución del crecimiento radicular de la plántula de alfalfa

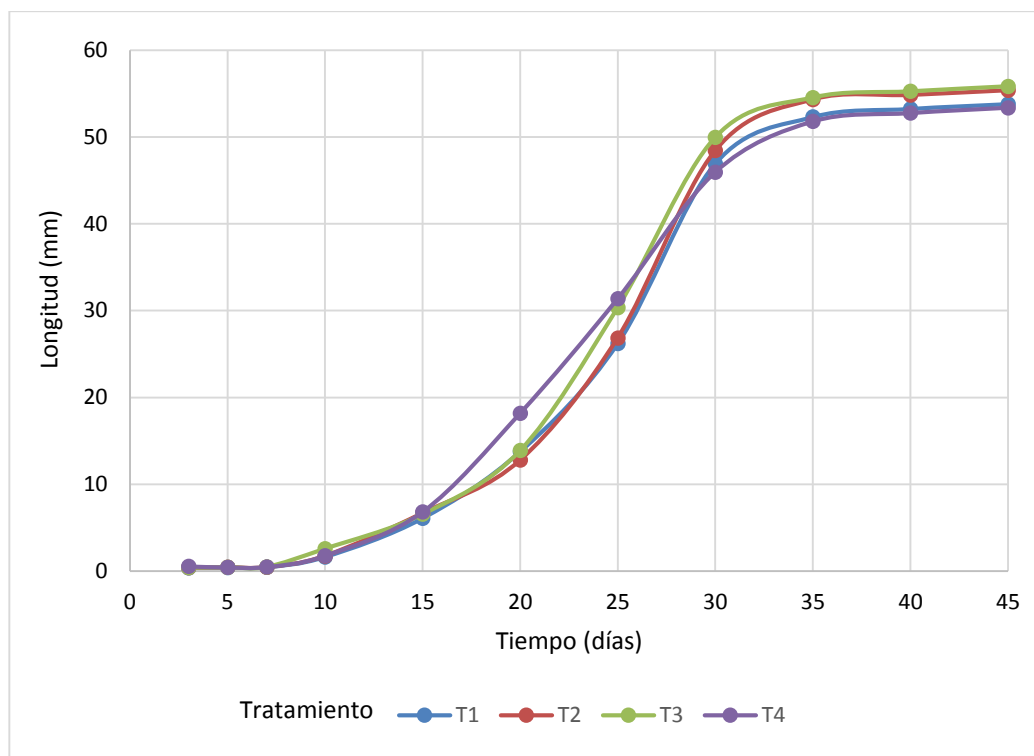


Figura 23. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la tabla 18 se indica la longitud del tallo de las plántulas de alfalfa, de acuerdo a la concentración a la que fueron expuestas. Así, su mayor longitud se alcanzó al encontrarse expuesta a la concentración cuatro (día 45), con una longitud de 20.12 mm.

Tabla 18.

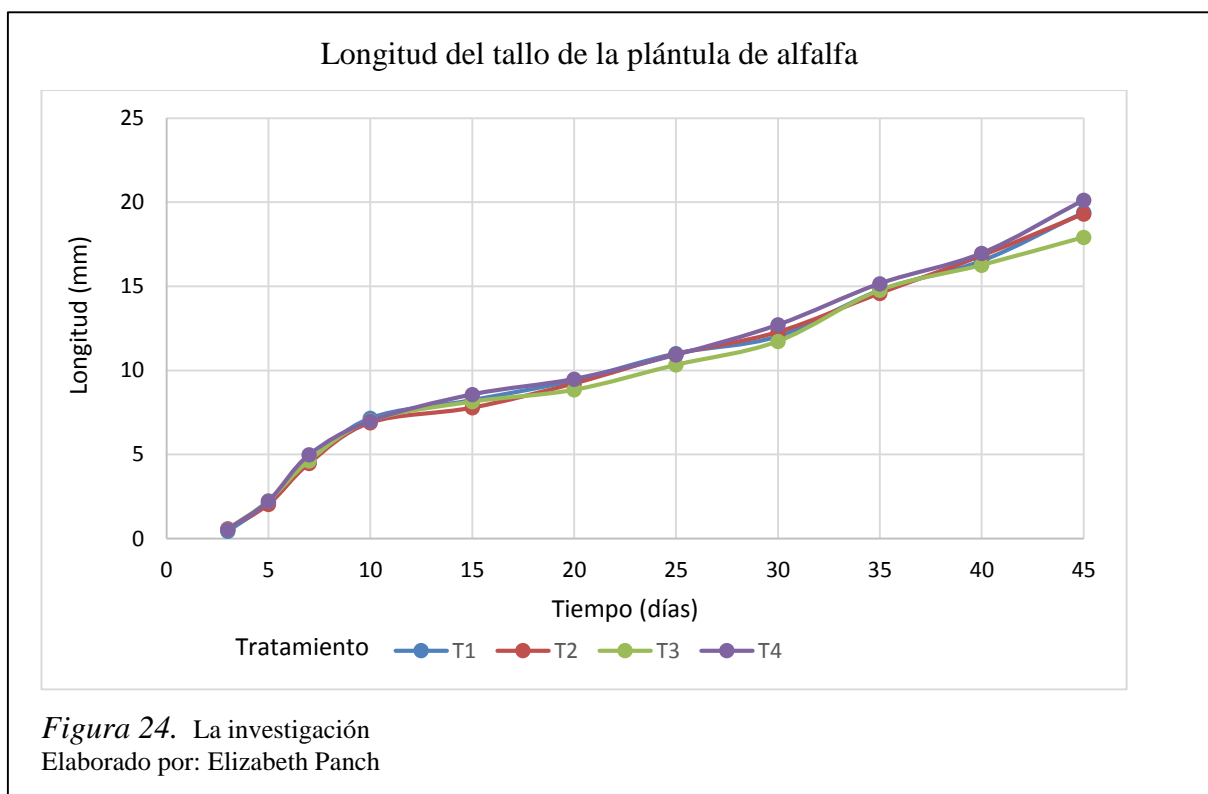
Longitud del tallo de la plántula de alfalfa.

	Longitud del tallo de alfalfa (mm)			
Días	Concentraciones			
	C1	C2	C3	C4
3	0,43	0,60	0,56	0,54
5	2,12	2,04	2,25	2,23
7	4,54	4,48	4,63	4,98
10	7,16	6,90	7,01	6,99
15	8,24	7,78	8,14	8,57
20	9,42	9,22	8,85	9,49
25	11,01	10,96	10,33	10,93
30	12,03	12,28	11,73	12,71
35	14,77	14,59	14,77	15,16
40	16,52	16,82	16,27	16,97
45	19,39	19,31	17,92	20,12

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la figura 24, se presenta el crecimiento que experimento la plántula de acuerdo a tiempo de exposición con las concentraciones de cadmio.



4.3.Alteración fisiológica

Inhibición del crecimiento de la raíz de girasol

Para analizar el efecto del cadmio sobre la raíz, se realizaron observaciones sobre las plántulas de girasol. La inhibición del crecimiento afectó únicamente a las raíces secundarias, en las raíces primarias no se observó ningún cambio.

En la tabla 19 se indica que el crecimiento se detuvo con el aumento de la concentración de cadmio en la solución, observándose una inhibición máxima del 67% del crecimiento de la plántula en la concentración cuatro (C4) a los 45 días de exposición con el cadmio. De acuerdo a estudios presentados por Elizarrarás (2005), se indica que la inhibición del crecimiento de la raíz primaria por efecto de un metal, no presenta cambios en las plantas una vez que se han desarrollado abundantes raíces laterales, que modifican la arquitectura de la raíz.

Tabla 19.

Porcentaje de plántulas de girasol que presentan alteraciones fisiológicas, en presencia del cadmio

Alteración fisiológica de las plántulas de girasol (%)													
		Inhibición del crecimiento de la raíz				Retraso del crecimiento de la planta				Clorosis			
Concentraciones		C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
Días	15	33	33	17	50	17	33	17	50	0	17	33	0
	30	67	17	50	50	50	33	50	50	17	33	0	67
	45	50	50	33	67	17	0	0	100	50	67	83	83

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la figura 25, se presentan los cambios que se produjeron a nivel radicular en las plántulas de girasol.

Inhibición del crecimiento de la raíz de la plántula de girasol

Desarrollo de las raíces secundarias



Inhibición del crecimiento de la raíz



Figura 25. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

Retraso del crecimiento de la planta de girasol

El crecimiento de tallo y hojas es directamente proporcional al grado de concentración de cadmio que está en contacto con la plántula, como se indica en la figura 26. Se presenta un efecto en el crecimiento del tallo en las seis plántulas pertenecientes a la concentración (C4) a los 45 días de exposición, contrastando con lo que exponen Grifferty & Barrington (200) quienes indican que las plantas pueden absorber grandes cantidades de metales, pero las raíces generalmente acumulan la mayor parte y, frecuentemente, constituyen el sitio de almacenamiento de ellos. Se evita así que dosis tóxicas se transloquen en la plántula.

En la concentración que contiene menores concentraciones de cadmio, se muestra un 17% de afectación del metal en el desarrollo de la planta.

Retraso en el crecimiento de la raíz para la plántula de girasol

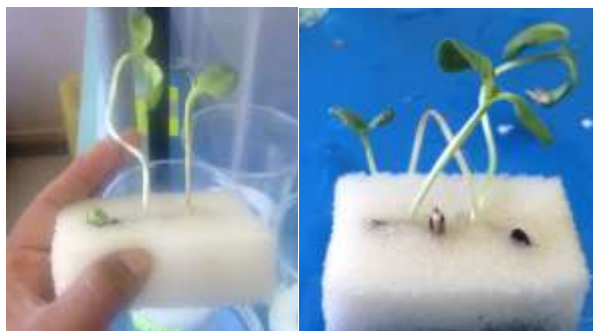


Figura 26. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

Clorosis de girasol

El efecto de clorosis que se presentó en las plántulas de girasol, fue cuando estas se encontraron expuestas a concentraciones de cadmio de 40 ppm y 50 ppm. Los resultados muestran que las plántulas con 15 días de exposición al metal, presentaron una afectación por clorosis del 17% indicando que, de cada seis plántulas de girasol, una presentó un amarillamiento de tallo y de hojas para concentraciones de cadmio menores; y a los 30 días exposición presentó clorosis en un 67%. Es decir, de cada seis plántulas de girasol, cinco presentaron amarillamiento en las hojas y tallo para concentraciones de cadmio superiores. Los cambios por clorosis se muestran en la figura 27.

Clorosis de la plántula de girasol



Figura 27. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

Inhibición del crecimiento de la raíz de menta

El efecto que produjo en las plántulas de menta la presencia de cadmio, se presenta en la tabla 20, reportando un 33% de afectación en el crecimiento de la raíz, cuando se encuentra expuesto a las concentraciones C2 y C3, que tienen un 40 y 50 ppm de concentración del metal.

Los cambios por inhibición del crecimiento de la raíz, se produjeron constantemente a los 30 días de exposición con el metal en todas las concentraciones, observándose que a menor concentración se produce el efecto de inhibición de la raíz. Este cambio fisiológico se puede corroborar con el trabajo de investigación de Benavides (2005), quien indica que la raíz constituye una de las principales barreras de defensa mediante la inmovilización del cadmio por pectinas de la pared celular. Los carbohidratos extracelulares (mucílago y calosa) de la raíz también pueden intervenir en la inmovilización del metal.

Tabla 20.

Porcentaje de plántulas de menta que presentan alteraciones fisiológicas, en presencia del cadmio.

Alteración fisiológica de las plántulas de menta													
(%)													
		Inhibición del crecimiento de la raíz				Retraso del crecimiento de la planta				Clorosis			
Concentraciones		C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
Días	15	17	33	33	0	0	17	0	0	0	0	0	0
	30	50	17	33	17	0	0	17	33	67	33	17	17
	45	50	17	0	0	0	0	0	0	50	67	33	50

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

La inhibición en el crecimiento de la raíz, coadyuvó a que la afectación en el crecimiento de la plántula sea mínima, afirmando lo mencionado por Grifferty & Barrington (2000), quienes determinaron que las plantas pueden absorber grandes cantidades de metales, pero las raíces generalmente acumulan la mayor parte y, frecuentemente, constituyen el sitio de almacenamiento de ellos.

El crecimiento del tallo y desarrollo de hojas en las plántulas de menta, se produjo de manera uniforme, presentando un 33% de retraso de crecimiento de tallo y hojas, en el tratamiento cuatro a los treinta días de exposición con el cadmio.

Retraso en el crecimiento de la raíz para la plántula de menta



Figura 28. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

Clorosis de menta

El efecto de amarillamiento de las hojas y tallo de las plántulas de menta, se produjo a los 30 y 45 días de exposición con el cadmio, presentando mayor afectación en la plántula que se encuentra expuesta al tratamiento dos, con una concentración de contaminante de 40 ppm. El efecto que se presentó es posiblemente debido a una clorosis rápida, ya que la asimilación del metal en la plántula, pudo impedir la asimilación de nutrientes de la solución nutritiva, como indica Salinas (2006). El efecto por clorosis fue generado de forma inmediata y general, como se muestra en la figura 29.

Clorosis de la plántula de menta



Figura 29. La investigación Elaborado por: Elizabeth Panchi

Inhibición del crecimiento de la raíz de alfalfa

Se observa una resistencia particular en las plántulas de alfalfa, pues la inhibición del crecimiento de la raíz se produjo en la raíz principal, dejando a las raíces secundarias en condiciones de asimilación de nutrientes. Benavides (2005) asegura que la raíz constituye una de las principales barreras de defensa mediante la inmovilización del cadmio por pectinas de la pared celular. Los carbohidratos extracelulares (mucílago y calosa) de la raíz también pueden intervenir en la inmovilización del metal.

Tabla 21.

Porcentaje de plántulas de alfalfa que presentan alteraciones fisiológicas, en presencia del cadmio

Alteración fisiológica de las plántulas de alfalfa													
(%)													
		Inhibición del crecimiento de la raíz				Retraso del crecimiento de la planta				Clorosis			
Concentraciones		C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
Días	15	17	17	17	33	0	17	0	17	0	0	0	0
	30	17	0	17	17	0	17	0	33	17	17	17	0
	45	50	17	0	33	33	33	33	0	83	67	67	50

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la figura 30 se muestran los cambios que se produjeron a nivel radicular en la plántula de alfalfa.

Inhibición del crecimiento de la raíz de la plántula de alfalfa



Figura 30. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

Retraso del crecimiento de la planta de alfalfa

Las limitaciones de crecimiento y desarrollo de las plántulas de alfalfa, fueron contrarrestados por la acción de asimilación de cadmio en la raíz, permitiendo que no se produzcan cambios considerables. La afectación se presentó en el tratamiento cuatro, mostrando el 33% de retraso en el crecimiento de la plántula en el tratamiento cuatro, que contiene 60 ppm de cadmio en la solución hidropónica.

Retraso en el crecimiento de la raíz para la plántula de alfalfa



Figura 31. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

Clorosis de alfalfa

La presencia de clorosis en las plántulas de alfalfa reporta una afectación del 83% en la exposición con el tratamiento uno a los 45 días de contacto, la plántula experimenta saturación de cadmio, factor que sirve como indicador de toxicidad para la alfalfa.

El efecto de clorosis que se presenta nos indica que a mayor tiempo de exposición del contaminante con la planta, esta alcanza un nivel máximo de saturación, y posterior muerte. Ernst (1998), Seregin & Ivanova (2001) mencionan que los trastornos fisiológicos por concentraciones de cadmio expuestas a un período prolongado de tiempo, pueden llevar a la planta a la muerte.

Clorosis de la plántula de alfalfa



Figura 32. La investigación
Elaborado por: Elizabeth Panchi

4.4.Potencial de hidrógeno (pH)

El pH se presenta como un indicador de los cambios que ocurren cuando las especies en estudio están en contacto con el cadmio. Así, en la tabla 22 se muestran los datos de pH registrados durante la investigación:

Tabla 22.

pH de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 15 días

Concentración 1				Concentración 2			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	8.74	8.02	9.28	R1	8.84	9.12	9.26
R2	8.99	8.29	8.68	R2	9.16	9.24	8.62
R3	8.62	8.23	8.71	R3	9.03	8.85	8.57
R4	9.02	8.52	8.55	R4	9.16	9.45	8.63
R5	8.99	8.48	9.28	R5	9.15	9.11	8.62
R6	8.91	8.27	8.38	R6	9.16	9.13	8.48
Promedio	8,88	8,30	8,81		9,08	9,15	8,70
Concentración 3				Concentración 4			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	8.66	8.22	9.28	R1	8.50	8.23	7.22
R2	8.67	8.11	7.03	R2	8.58	8.22	6.54
R3	8.56	8.18	7.03	R3	6.72	7.92	6.88
R4	8.53	8.19	7.94	R4	7.47	7.86	7.61
R5	8.67	8.25	8.38	R5	8.29	7.87	8.35
R6	8.45	8.20	7.03	R6	6.93	8.16	7.94
Promedio	8,59	8,19	7,78	Promedio	7.75	8.04	7.42

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

El análisis de varianza que se describe en la tabla 23, realizado a los 15 días, determina que existe una diferencia significativa entre la especie que se encuentra a una concentración C2 (40 ppm de cadmio), y las especies que se encuentran expuestas a las demás concentraciones.

Los coeficientes de variación para el girasol, menta y alfalfa expuestas a las concentraciones C1, C2, C3, y C4 son 2.64%, 2.55%, 6.33% 8.23% respectivamente, los cuales indican que el experimento se realizó correctamente.

Tabla 23.

Análisis de Varianza para pH a los 15 días de exposición con cadmio

Fuentes de variación	Cuadrados medios			
	C1	C2	C3	C4
Especie	0,14 ^{NS}	0,36*	0.98 ^{NS}	0.58 ^{NS}
Repeticiones	0.07 ^{NS}	0.03 ^{NS}	0.34 ^{NS}	0.35 ^{NS}
C. V.	2,64	2.55	6.33	8.23

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Las medias de pH de las especies de girasol, menta y alfalfa medidas a los 15 días de exposición con el cadmio, se presentan en la tabla 24. La concentración C2 en la especie de alfalfa indica un pH de 8.7, es decir, que se encuentra en un medio alcalino. El pH en el agua se redujo con una tendencia hacia la acidez, el cual es adecuado para que el cadmio pueda ser asimilado de manera óptima por la plántula, corroborando lo indicado por Mani (2007), donde el pH es el principal factor de control de la disponibilidad de los metales para las plantas. La mayor parte de los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido.

Tabla 24.

Pruebas de Tukey (5%) de pH, evaluadas a los 15 días.

C2		
	Media	Rango
E3	8.7	a
E1	9.08	b
E2	9.15	b

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

El pH que se reporta a los 30 días de exposición es alcalino, como se indica en la tabla 25, donde se observa valores de 7 hasta 9 unidades de pH. Es decir, que existe un aumento de pH para las especies de girasol y alfalfa y una disminución para la especie de menta respecto al pH medido a los 15 días, evidenciando que se presenta una interacción entre el metal y la planta.

Los resultados obtenidos son concordantes con lo que establecio Fergusson (2006), quien reportó que el contenido de cadmio en las plantas generalmente aumenta en el siguiente orden: raíces, tallos, hojas, frutos y semillas. Refiriendonos a la interaccion antes mencionada, en nuestro caso se trata de la raíz y el cadmio.

Tabla 25.

pH de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 30 días

Concentración 1				Concentración 2			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	9.25	7.63	9.48	R1	9.11	8.89	8.79
R2	9.26	7.08	9.18	R2	9.30	8.76	8.62
R3	9.31	7.86	9.09	R3	9.20	8.72	8.72
R4	9.46	7.69	9.07	R4	9.56	8.75	8.98
R5	9.69	7.67	9.03	R5	9.37	8.77	8.93
R6	9.76	7.75	8.99	R6	9.30	8.83	8.53
Promedio	9.46	7.61	9.14	Promedio	9.31	8.79	8.76
Concentración 3				Concentración 4			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	9.24	7.80	9.23	R1	8,77	7,95	8,56
R2	9.29	7.80	9.22	R2	8,97	8,02	8,96
R3	9.27	7.74	9.02	R3	8,53	8,11	8,61
R4	9.19	7.87	9.19	R4	8,81	7,78	8,61
R5	8.63	7.91	8.79	R5	8,69	7,72	8,41
R6	8.76	7.97	8.53	R6	8,65	7,82	8,71
Promedio	9.06	7.85	9.00	Promedio	8,74	7,90	8,64

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

El análisis de varianza que se indica en la tabla 26, se realizó a los 30 días de exposición con el metal, donde se determina que existen diferencias altamente significativas entre las especies en estudio y el grado de concentración de cadmio a la que están expuestas. Los coeficientes de variación para el girasol, menta y alfalfa expuestas a las concentraciones C1, C2, C3, y C4 son 2.74%, 1.46%, 2.5% y 1.55% respectivamente, los cuales indican que el experimento se realizó correctamente.

Tabla 26.

Análisis de Varianza para el pH a los 30 días de exposición con cadmio

30 días				
Fuentes de variación	Cuadrados medios			
	C1	C2	C3	C4
Especie	5.72**	0.57**	2.80**	1.26**
Repeticiones	0.04 ^{NS}	0.02 ^{NS}	0.08 ^{NS}	0.05 ^{NS}
C. V.	2.74	1.46	2.5	1.55

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Las medias de pH de las especies de girasol, menta y alfalfa medidas a los 30 días de exposición con el cadmio, se presentan en la tabla 27, donde la muestra de agua que se encuentra en contacto con la especie de menta (E2) muestra una reducción del pH de 7.63, es decir que el pH en el agua se ha reducido con una tendencia hacia la acidez, indicando una disponibilidad para asimilar el cadmio.

También se observa que para la concentración (C4), la menta redujo el pH obteniendo un valor de 7.9, mostrando que la asimilación de cadmio se produce en todas las concentraciones a las que se expone a las especies en un período corto de tiempo, y que de acuerdo al crecimiento de la plántula que se evidencia a los 30 días, se muestra que la absorción de cadmio aún se encuentra a nivel radicular. Esto es confirmando por el trabajo de Benavides (2005), quien menciona que la raíz constituye una de las principales barreras de defensa mediante la inmovilización del cadmio por pectinas de la pared celular que intervienen en la inmovilización del metal.

Tabla 27.

Pruebas de Tukey (5%), de pH evaluadas a los 30 días.

C1			C2			C3			C4		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
E2	7.63	a	E3	8.76	a	E2	7.85	a	E2	7.9	a
E3	9.14	b	E2	8.79	a	E3	9	b	E3	8.64	b
E1	9.46	b	E1	9.31	b	E1	9.06	b	E1	8.74	b

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

El pH medido a los 45 días se reporta en la tabla 28, donde se muestra una variación con respecto a las mediciones realizadas en días anteriores a la muestra de agua. El valor se encuentra entre 7 – 8, indicando que el pH se ha reducido, convirtiéndose en un medio más factible para la asimilación de los metales por parte de las plántulas. Según Maní (2007), los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido, para favorecer la absorción por las raíces de las plantas.

Tabla 28.

pH de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 45 días

Concentración 1				Concentración 2			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	8.23	7.32	8.88	R1	8.57	8.24	8.53
R2	8.50	7.44	8.75	R2	8.56	8.31	8.31
R3	8.42	7.35	8.77	R3	8.77	8.33	8.51
R4	8.67	7.39	8.66	R4	8.01	8.30	8.35
R5	8.42	7.12	8.78	R5	8.53	8.32	8.36
R6	8.45	7.32	8.85	R6	8.61	8.32	8.72
Promedio	8.45	7.32	8.78	Promedio	8.51	8.30	8.46
Concentración 3				Concentración 4			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	8.58	7.44	8.64	R1	8.49	7.09	8.73
R2	8.69	7.53	8.57	R2	8.71	7.12	8.74
R3	8.70	7.51	8.70	R3	8.83	7.15	8.65
R4	8.80	7.48	8.76	R4	8.57	7.20	8.60
R5	8.92	7.51	8.85	R5	8.36	7.13	8.80
R6	8.79	7.46	8.69	R6	8.72	7.12	8.67
Promedio	8.75	7.49	8.70	Promedio	8.61	7.14	8.70

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

El análisis de varianza a los 45 días, que se presenta en la tabla 29, determina que existe una diferencia altamente significativa entre la especie de menta y las otras dos especies en estudio. De acuerdo a la concentración de cadmio a la que están expuestas, no se observa variabilidad para la concentración C2.

Los coeficientes de variación para el girasol, menta y alfalfa expuestas a las concentraciones C1, C2, C3, y C4 son 1.5%, 1.85%, 0.8% y 1.49% respectivamente, los cuales indican que el experimento se realizó correctamente.

Tabla 29.

Análisis de varianza para el pH medido a los 45 días de exposición con cadmio

45 días				
Fuentes de variación	Cuadrados medios			
	C1	C2	C3	C4
Especie	3.5**	0.07 ^{NS}	3.06**	4.64**
Repeticiones	0.01 ^{NS}	0.04 ^{NS}	0.02*	0.01 ^{NS}
C. V.	1.5	1.85	0.8	1.49

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Las medias de pH de las especies de girasol, menta y alfalfa medidas a los 45 días de exposición con el cadmio, se presentan en la tabla 30. En la concentración cuatro en la plántula de menta, indica un pH de 7.14, es decir que el pH en el agua se ha reducido con una tendencia hacia la acidez, indicando una disponibilidad para asimilar el cadmio con respecto al tiempo de exposición y la concentración de cadmio a la que está expuesta. Abollino (2002), indica que la toxicidad de los metales depende no sólo de su concentración, sino también de su movilidad y reactividad con otros componentes del ecosistema.

Tabla 30.

Pruebas de Tukey (5%) de pH, evaluadas a los 45 días.

C1			C2			C3			C4		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
E2	7.32	a	E2	8.3	a	E2	7.49	a	E2	7.14	a
E1	8.45	b	E3	8.46	a	E3	8.7	b	E1	8.61	b
E3	8.78	c	E1	8.51	a	E1	8.75	b	E3	8.7	b

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Los valores de potencial hidrogeno que se presentan en la tabla 31 reportan que la muestra de agua sin especie (E4-testigo) varió su pH de 7 - 8 durante el tiempo de investigación, a diferencia de las muestras de agua que tienen las plántulas en estudio, que inicialmente presentan un pH de 8 hasta reducirse a un pH de 7.

De acuerdo el estudio presentado por Cotton & Wilkinson (1997), la influencia del pH en la absorción de metales pesados presentes en el agua, indica que la formación de

complejos con el agua es regulada por el pH, ya que a altos valores de pH, la concentración de iones oxhidrilo aumenta en la solución y es capaz de formar hidroxocomplejos, disminuyendo también su afinidad con el adsorbente, que en el presente estudio sería la afinidad con el cadmio.

Se justifica el aumento de pH en la muestra de agua que se encuentran en contacto con las especies vegetales en estudio y la muestra de agua que no tiene especie, con la formación de hidrocomplejos que provocan en el agua un aumento de pH. Al transcurrir el tiempo estos se metabolizan disminuyendo el pH, favoreciendo la asimilación con las plántulas.

Tabla 31.

Datos promedio de pH de las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.

15 Días									
Concentración 1					Concentración 2				
	Girasol	Menta	Alfalfa	testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	testigo
R1	8,74	8,02	9,28	7,87	R1	8,84	9,12	9,26	7,90
R2	8,99	8,29	8,68	7,45	R2	9,16	9,24	8,62	7,61
R3	8,62	8,23	8,71	7,73	R3	9,03	8,85	8,57	7,92
R4	9,02	8,52	8,55	7,96	R4	9,16	9,45	8,63	7,68
R5	8,99	8,48	9,28	8,12	R5	9,15	9,11	8,62	7,84
R6	8,91	8,27	8,38	8,08	R6	9,16	9,13	8,48	7,79
Promedio	8,88	8,30	8,81	7,87	Promedio	9,08	9,15	8,70	7,79
Concentración 3					Concentración 4				
	Girasol	Menta	Alfalfa	testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	testigo
R1	8,66	8,22	9,28	7,05	R1	8,50	8,23	7,22	7,92
R2	8,67	8,11	7,03	7,16	R2	8,58	8,22	6,54	7,57
R3	8,56	8,18	7,03	7,00	R3	6,72	7,92	6,88	7,96
R4	8,53	8,19	7,94	7,12	R4	7,47	7,86	7,61	7,68
R5	8,67	8,25	8,38	7,06	R5	8,29	7,87	8,35	7,65
R6	8,45	8,20	7,03	7,08	R6	6,93	8,16	7,94	7,76
Promedio	8,59	8,19	7,78	7,08	Promedio	7,75	8,04	7,42	7,76
30 días									
Concentración 1					Concentración 2				
	Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	testigo
R1	9,25	7,63	9,48	8,85	R1	9,11	8,89	8,79	7,23
R2	9,26	7,08	9,18	7,74	R2	9,30	8,76	8,62	7,13
R3	9,31	7,86	9,09	8,19	R3	9,20	8,72	8,72	8,23
R4	9,46	7,69	9,07	7,81	R4	9,56	8,75	8,98	7,73
R5	9,69	7,67	9,03	8,3	R5	9,37	8,77	8,93	7,68

R6	9,76	7,75	8,99	7,78	R6	9,30	8,83	8,53	7,71
Promedio	9,46	7,61	9,14	8,11	Promedio	9,31	8,79	8,76	7,62
Concentración 3					Concentración 4				
	Girasol	Menta	Alfalfa	testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	testigo
R1	9,24	7,80	9,23	8,18	R1	8,77	7,95	8,56	7,86
R2	9,29	7,80	9,22	7,93	R2	8,97	8,02	8,96	7,02
R3	9,27	7,74	9,02	8,05	R3	8,53	8,11	8,61	7,16
R4	9,19	7,87	9,19	8,12	R4	8,81	7,78	8,61	7,56
R5	8,63	7,91	8,79	8,19	R5	8,69	7,72	8,41	7,29
R6	8,76	7,97	8,53	7,31	R6	8,65	7,82	8,71	7,23
Promedio	9,06	7,85	9,00	7,96	Promedio	8,74	7,90	8,64	7,35
45 días									
Concentración 1					Concentración 2				
	Girasol	Menta	Alfalfa	testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	testigo
R1	8,23	7,32	8,88	7,73	R1	8,57	8,24	8,53	7,81
R2	8,50	7,44	8,75	7,11	R2	8,56	8,31	8,31	7,08
R3	8,42	7,35	8,77	8,02	R3	8,77	8,33	8,51	7,27
R4	8,67	7,39	8,66	7,88	R4	8,01	8,30	8,35	7,54
R5	8,42	7,12	8,78	7,49	R5	8,53	8,32	8,36	7,31
R6	8,45	7,32	8,85	7,57	R6	8,61	8,32	8,72	7,25
Promedio	8,45	7,32	8,78	7,63	Promedio	8,51	8,30	8,46	7,38
Concentración 3					Concentración 4				
	Girasol	Menta	Alfalfa	testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	testigo
R1	8,58	7,44	8,64	8,53	R1	8,49	7,09	8,73	7,96
R2	8,69	7,53	8,57	7,11	R2	8,71	7,12	8,74	7,13
R3	8,70	7,51	8,70	8,02	R3	8,83	7,15	8,65	8,19
R4	8,80	7,48	8,76	7,43	R4	8,57	7,20	8,60	8,08
R5	8,92	7,51	8,85	7,73	R5	8,36	7,13	8,80	7,60
R6	8,79	7,46	8,69	7,65	R6	8,72	7,12	8,67	7,89
Promedio	8,75	7,49	8,70	7,75	Promedio	8,61	7,14	8,70	7,81

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

El análisis de varianza (tabla 32) de las especies en estudio, reporta que existen diferencias altamente significativas con respecto a concentración y la interacción concentración por especies. Los coeficientes de variación evaluado a los 15, 30 y 45 días, son 4.80%, 2.95%, 2.67%, respectivamente.

Tabla 32.

Análisis de varianza, para la variable pH de las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio.

Potencial Hidrogeno			
Fuentes de variación	Cuadrados medios		
	15 días	30 días	45 días
Concentración	4,75**	1,07 **	0,10 ^{NS}
Especie	4,18**	10,36 **	8,35**
Concentración * especie	0,8**	0,71**	0.64**
CV	4,8	2,95	2,67

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la tabla 33, se indica que la especie E1 (girasol), presentan medias de pH de 8,58 y 9,13 a los 15 y 30 días respectivamente, a diferencia del resto de las especies, mostrando que el girasol reacciona de manera favorable, en los primeros días de exposición con el cadmio.

Tabla 33.

Pruebas de Tukey (5%) para la variable pH de las especies en estudio en diferentes periodos de tiempo.

15 días			30 días			45 días		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
E1	8,58	a	E1	9,13	a	E3	8,66	a
E2	8,42	a b	E3	8,89	b	E1	8,58	a
E3	8,18	b	E2	8,04	c	E4	7,64	b
E4	7,62	c	E4	7,77	d	E2	7,56	b

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En las tabla 34, las medias de las concentraciones muestran un valor de 7,74 de pH a los 15 días de exposición con el cadmio, mostrando que las especies reaccionan favorablemente en los primeros días de exposicion a concentraciones elevadas de cadmio. A los 45 días se indica que el pH permanece constante, es decir, en el mismo rango “a”, debido a que las especies en estudio disminuyen su acción de asimilación del metal y no varia.

Tabla 34.

Pruebas de Tukey (5%) para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.

15 días			30 días			45 días		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
C4	7,74	a	C4	8,16	a	C1	8,05	a
C3	7,91	a	C3	8,47	b	C4	8,06	a
C1	8,47	b	C1	8,58	b	C2	8,16	a
C2	8,68	b	C2	8,63	b	C3	8,17	a

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Como se muestra en la tabla 35, las medias de la interacción que se produce entre las concentraciones y las especies en los diferentes períodos de tiempo, tienen valores de pH que van desde un rango “a” hasta un rango “e”. La interacción de concentración C4 por especie E2, a los 45 días presenta un rango “a”, indicando que tiene el valor de pH adecuado para una mejor asimilación de cadmio.

Tabla 35.

Pruebas de Tukey (5%) para la interacción las especies en estudio y las concentraciones de cadmio en diferentes periodos de tiempo.

15 días			30 días			45 días		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
C3E4	7,08	a	C4E4	7,35	a	C4E2	7,14	a
C4E3	7,42	a b	C1E2	7,61	a b	C1E2	7,32	a b
C4E1	7,75	a b c	C2E4	7,64	a b	C2E4	7,38	a b c
C4E4	7,76	a b c	C3E2	7,85	a b	C3E2	7,49	a b c
C3E3	7,78	a b c	C4E2	7,9	b	C1E4	7,63	b c
C2E4	7,79	a b c d	C3E4	7,96	b	C3E4	7,75	b c
C1E4	7,87	a b c d	C1E4	8,11	b	C4E4	7,81	c
C4E2	8,04	b c d e	C4E3	8,64	c	C2E2	8,3	d
C3E2	8,19	b c d e f	C4E1	8,74	c	C1E1	8,45	d e
C1E2	8,3	c d e f g	C2E3	8,79	c d	C2E3	8,46	d e
C3E1	8,59	d e f g h	C2E2	8,81	c d	C2E1	8,51	d e
C2E3	8,7	e f g h	C3E3	9	c d e	C4E1	8,61	d e
C1E3	8,81	e f g h	C3E1	9,06	c d e	C4E3	8,7	d e
C1E1	8,88	f g h	C1E3	9,14	c d e	C3E3	8,7	d e
C2E1	9,08	g h	C2E1	9,28	d e	C3E1	8,75	e
C2E2	9,15	h	C1E1	9,46	e	C1E3	8,78	e

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

4.5. Absorción del Cadmio

Los resultados de la presencia de cadmio en la muestra de agua, presentan variaciones de absorción, de acuerdo al grado de concentración del metal y el contacto con la especie vegetal.

En la tabla 36 se indica la concentración de cadmio que se encuentra presente en la muestra de agua, a los 15 días reporta 7,57 ppm de cadmio presente en el agua, en la concentración C1 (10 ppm de cadmio) para la especie de girasol, lo que indica la acción de la plántula específicamente de la raíz sobre la muestra de agua contaminada, es decir que la raíz ha inhibido el contacto con el cadmio y la plántula empieza a asimilar este contaminante. Así lo afirma Schützendübel (2002), donde indica que la asimilación de cadmio se produce mayormente en el crecimiento radical, seguida del crecimiento de brotes, que afecta significativamente sólo a concentraciones altas de cadmio, causando altos niveles de estrés oxidativo.

Tabla 36.

Datos de absorción de cadmio, de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 15 días

Concentraciones de cadmio presentes en el agua, a los 15 días de exposición (ppm)							
Concentración 1				Concentración 2			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	8,00	9,30	9,00	R1	9,4	15,6	10,5
R2	9,40	8,70	9,00	R2	8	12,5	11,8
R3	7,80	7,40	8,00	R3	9	14,6	10,2
R4	5,30	7,80	13,00	R4	7,8	14,8	13,2
R5	8,70	8,30	6,00	R5	7,9	15,3	16
R6	6,20	5,60	5,00	R6	7,8	15,7	13,7
Promedio	7,57	7,85	8,33	Promedio	8,32	14,75	12,57
Concentración 3				Concentración 4			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	11,4	11,1	18,5	R1	14,3	16,6	18,9
R2	11,1	11,5	20,1	R2	13,3	18,9	19,2
R3	11,6	11,8	11,6	R3	12,5	14,6	19,1
R4	9,6	11,3	13,2	R4	13,3	16,7	19,3
R5	11,9	11,7	20	R5	12,7	18,9	19,7
R6	11,7	9,8	15,6	R6	12,9	19,7	19,7
Promedio	11,22	11,20	16,50	Promedio	13,17	17,57	19,32

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

En la tabla 37 se presenta el análisis de varianza realizado a los 15 días de exposición del cadmio con plántula, donde muestra que existen diferencias altamente significativas entre el girasol, menta y alfalfa. De acuerdo con Baker (2000), todas las plantas absorben metales pero en distinto grado, dependiendo de la especie vegetal, y de las características y contenido del metal. Las plantas pueden adoptar distintas estrategias frente a la presencia de metales en su entorno (Baker A., 2000, p. 85).

Tabla 37.

Análisis de varianza para la Absorción de cadmio medido a los 15 días de exposición con cadmio

Absorción de cadmio medido a los 15 días de exposición (ppm)				
Fuentes de variación	Cuadrados medios			
	C1	C2	C3	C4
Especie	45.09*	64,22**	56,0**	60,25**
Repeticiones	4,83 NS	1,98 NS	5,50 NS	1,59 NS
C. V.	23,76	12,91	16,1	6,89

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Las medias de absorción de cadmio, medidos en ppm de las especies de girasol, menta y alfalfa medidas a los 15 días de exposición, se presentan en la tabla 38, donde para la plántula de alfalfa en la concentración C4 indica una disminución de cadmio de 11,7 ppm, es decir que la presencia de cadmio en el agua se ha reducido, determinando que la plántula absorbió la mayor cantidad del metal hasta saturarse.

Estos resultados son similares a otras investigaciones (Smiri, 2010), donde se indica que el cadmio a concentraciones altas, puede experimentar una ligera estimulación en la germinación y desarrollo de la plántula, que se atribuye a un exceso de producción de especies reactivas al oxígeno y especies reactivas al nitrógeno, lo que produce la estimulación.

Tabla 38.

Pruebas de Tukey (5%) para la absorción de cadmio, evaluadas a los 15 días.

Absorción de cadmio medido a los 15 días de exposición (ppm)											
C1			C2			C3			C4		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
E1	17,57	a	E1	18,32	a	E2	13,2	a	E3	11,17	a
E2	17,85	a	E3	12,57	b	E1	11,22	a	E1	17,57	b
E3	18,33	b	E2	14,75	b	E3	16,5	b	E2	19,92	c

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

La absorción de cadmio a los 30 días se presenta en la tabla 39, donde se reporta una variación de 3,28 ppm presente en el agua, en la concentración C2 (40 ppm de cadmio) para la especie de alfalfa, lo que indica que la raíz ha inhibido el contacto con el cadmio y la plántula empieza a asimilar este contaminante.

Tabla 39.

Absorción de cadmio, de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 30 días

Concentraciones de cadmio presentes en el agua, a los 30 días de exposición (ppm)							
Concentración 1				Concentración 2			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	6,40	7,10	4,90	R1	6,80	8,60	6,90
R2	7,10	7,60	7,50	R2	6,00	7,90	6,60
R3	7,20	7,70	4,50	R3	6,10	8,60	6,40
R4	7,30	7,60	8,80	R4	9,10	8,30	7,70
R5	7,30	7,90	6,80	R5	10,00	8,70	7,20
R6	7,90	7,40	6,30	R6	8,10	9,20	6,90
Promedio	7,20	7,550	6,467	Promedio	7,683	8,550	6,950
Concentración 3				Concentración 4			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	13,00	10,70	11,80	R1	11,80	14,80	11,50
R2	10,70	9,60	11,70	R2	8,70	14,90	12,10
R3	12,30	9,20	11,60	R3	14,20	14,70	17,10
R4	9,10	10,30	11,90	R4	16,10	14,70	18,80
R5	9,60	9,30	11,80	R5	11,90	14,80	19,50
R6	8,50	8,70	20,00	R6	10,30	14,90	17,60
Promedio	13,00	10,70	11,80	Promedio	12,167	14,800	16,100

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la tabla 40, se indica el análisis de varianza realizado a los 30 días de exposición del cadmio con plántula, presentando diferencias altamente significativas entre el girasol, menta y alfalfa. Los coeficientes de variación para las concentraciones C1, C2, C3, C4 son 12.75%, 11.22%, 12.94% y 15,95% respectivamente.

Este comportamiento entre la plántula y el metal, indica que los mecanismos de absorción de cadmio en la plántula fueron factibles para que se acumule en su estructura, permitiendo la disminución del cadmio en la muestra de agua.

Tabla 40.

Análisis de varianza para la absorción de cadmio medido a los 30 días de exposición.

Absorción de cadmio medido a los 30 días de exposición (ppm)				
Fuentes de variación	Cuadrados medios			
	C1	C2	C3	C4
Especie	1,83**	3,85**	19,82**	24,10**
Repeticiones	1,28 ^{NS}	1,63 ^{NS}	2,17 ^{NS}	9,34 ^{NS}
C. V.	12,75	11,22	12,94	15,25

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

Los promedios de absorción de cadmio, medidos en ppm de las especies de girasol, menta y alfalfa tomados a los 30 días de exposición, se presentan en la tabla 41, donde existe una reducción de la presencia de cadmio en la muestra de agua, tanto para la concentración C2 de 6,47 ppm y la concentración C4 de 6,95 ppm, determinando que las plántulas de alfalfa y menta han absorbido la mayor cantidad del metal. Así, se muestra que la absorción de cadmio no depende del tiempo de exposición, sino de la capacidad y las propiedades que tenga la especie vegetal de asimilar de manera óptima un contaminante.

Tabla 41.

Pruebas de Tukey (5%) para la absorción de cadmio, evaluado a los 30 días.

Absorción de cadmio medido a los 30 días de exposición (ppm)											
C1			C2			C3			C4		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
E3	11,43	a	E3	6,47	a	E3	9,63	a	E2	6,95	a
E1	7,2	a	E1	7,68	b	E2	10,53	b	E3	14,8	b
E2	7,55	b	E2	8,55	b	E1	13,13	b	E1	16,1	c

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

La absorción de cadmio a los 45 días se presenta en la tabla 42, donde se indica que existe una asimilación del metal que varía de acuerdo a la concentración y la especie con la que se encuentran en contacto. En una concentración C1 se obtiene 7,75 ppm para la plántula de menta.

Tabla 42.

Absorción de cadmio, de las muestras de agua en contacto con las especies en estudio a los 45 días

Concentraciones de cadmio presentes en el agua, a los 45 días de exposición (ppm)							
Concentración 1				Concentración 2			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	7,60	7,60	8,00	R1	8,20	14,60	12,50
R2	7,80	7,70	8,30	R2	8,00	14,40	12,30
R3	7,50	7,70	8,50	R3	8,40	14,30	12,40
R4	7,80	7,80	8,40	R4	8,30	14,50	12,60
R5	7,90	7,90	8,20	R5	8,20	14,20	12,40
R6	8,00	7,80	8,40	R6	8,10	14,50	12,30
Promedio	7,77	7,75	8,30	Promedio	8,20	14,42	12,42
Concentración 3				Concentración 4			
	Girasol	Menta	Alfalfa		Girasol	Menta	Alfalfa
R1	11,10	11,20	16,30	R1	13,90	17,40	19,20
R2	11,70	11,00	16,40	R2	13,90	17,50	19,10
R3	11,10	11,00	16,30	R3	13,10	17,60	19,20
R4	11,20	11,00	16,40	R4	11,30	17,30	19,20
R5	11,90	11,20	16,60	R5	13,80	17,60	19,30
R6	10,00	11,10	16,40	R6	13,60	17,50	19,10
Promedio	11,17	11,08	16,40	Promedio	13,27	17,48	19,18

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

El análisis de varianza realizado a los 45 días de exposición del cadmio con plántula, muestra que existen diferencias altamente significativas para las concentraciones C1, C2 y C4, como se puede ver en la tabla 43. Los coeficientes de variación son 1,72%, 2,91% y 3.42% respectivamente.

Tabla 43.

Análisis de varianza para la absorción de cadmio a los 45 días de exposición.

Absorción de cadmio medido a los 45 días de exposición (ppm)				
Fuentes de variación	Cuadrados medios			
	C1	C2	C3	C4
Especie	6,59**	6,43NS	5,66**	5,68**
Repeticiones	0.04NS	0.03NS	0.02*	0.03 NS
C. V.	1,72	1,03	2,91	3,42

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

Los promedios de absorción de cadmio, medidos en ppm de las especies de girasol, menta y alfalfa medidas a los 45 días de exposición, se presentan en la tabla 44. En la concentración cuatro en la plántula de girasol, indica 13,27 ppm, es decir que presenta entre las especies la menor cantidad de cadmio, determinando que la plántula absorbió la mayor cantidad del metal, seguido de la menta que obtuvo una concentración de cadmio en el agua de 17,48 ppm.

Tabla 44.

Pruebas de Tukey (5%) para la absorción de cadmio, evaluadas a los 45 días.

Absorción de cadmio medido a los 45 días de exposición (ppm)								
C1			C3			C4		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
E2	7,75	a	E2	11,08	a	E1	13,27	a
E1	7,77	a b	E3	11,17	a	E2	17,48	b
E3	8,3	b	E1	16,4	b	E3	19,18	c

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

En la tabla 45 se presentan los promedios de las especies en estudio y el testigo, donde se indican los cambios que se produjeron durante la investigación. De acuerdo a la concentración de cadmio, a los 45 días, la especie de menta que se encuentra en contacto con las muestra de agua que tiene una concentración C1 de 10 ppm del metal, muestra un valor de 7,75 ppm, indicando que con el transcurso de los días las plántulas de esta especie, experimentaron en relación con el resto de especies a esta concentración, la asimilación total del metal y se saturó, provocando cambios fisiológicos que produjeron la muerte de la especie por la acción del metal.

Tabla 45.

Promedio de las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.

15 días									
Concentración 1					Concentración 2				
	Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo
R1	8,00	9,30	9,00	10,00	R1	9,4	15,6	10,5	39
R2	9,40	8,70	9,00	10,20	R2	8	12,5	11,8	39
R3	7,80	7,40	8,00	10,20	R3	9	14,6	10,2	38
R4	5,30	7,80	13,00	10,10	R4	7,8	14,8	13,2	39
R5	8,70	8,30	6,00	10,20	R5	7,9	15,3	16	38
R6	6,20	5,60	5,00	10,30	R6	7,8	15,7	13,7	39
Promedio	7,57	7,85	8,33	10,17	Promedio	8,32	14,75	12,57	38,67
Concentración 3					Concentración 4				
	Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo
R1	11,4	11,1	18,5	46	R1	14,3	16,6	18,9	58,4
R2	11,1	11,5	20,1	44	R2	13,3	18,9	19,2	59,6
R3	11,6	11,8	11,6	49	R3	12,5	14,6	19,1	58,1
R4	9,6	11,3	13,2	43	R4	13,3	16,7	19,3	60
R5	11,9	11,7	20	47	R5	12,7	18,9	19,7	58
R6	11,7	9,8	15,6	49	R6	12,9	19,7	19,7	60
	11,22	11,20	16,50	46,33	Promedio	13,17	17,57	19,32	59,02
30 días									
Concentración 1					Concentración 2				
	Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo
R1	6,40	7,10	4,90	10,00	R1	6,80	8,60	6,90	40,00
R2	7,10	7,60	7,50	10,10	R2	6,00	7,90	6,60	40,00
R3	7,20	7,70	4,50	9,80	R3	6,10	8,60	6,40	39,00
R4	7,30	7,60	8,80	9,70	R4	9,10	8,30	7,70	40,00
R5	7,30	7,90	6,80	9,80	R5	10,00	8,70	7,20	39,00
R6	7,90	7,40	6,30	9,80	R6	8,10	9,20	6,90	38,00

Promedio	7,20	7,550	6,467	9,867	Promedio	7,683	8,550	6,950	39,333
Concentración 3					Concentración 4				
	Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo
R1	13,00	10,70	11,80	47,00	R1	11,80	14,80	11,50	58,00
R2	10,70	9,60	11,70	48,00	R2	8,70	14,90	12,10	59,00
R3	12,30	9,20	11,60	49,00	R3	14,20	14,70	17,10	60,00
R4	9,10	10,30	11,90	48,00	R4	16,10	14,70	18,80	58,00
R5	9,60	9,30	11,80	50,00	R5	11,90	14,80	19,50	59,10
R6	8,50	8,70	20,00	49,00	R6	10,30	14,90	17,60	60,00
	10,533	9,633	13,133	48,500	Promedio	12,167	14,800	16,100	59,017
45 días									
Concentración 1					Concentración 2				
	Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo
R1	7,60	7,60	8,00	10,50	R1	8,20	14,60	12,50	39,00
R2	7,80	7,70	8,30	10,30	R2	8,00	14,40	12,30	38,00
R3	7,50	7,70	8,50	10,10	R3	8,40	14,30	12,40	40,00
R4	7,80	7,80	8,40	10,30	R4	8,30	14,50	12,60	39,00
R5	7,90	7,90	8,20	10,10	R5	8,20	14,20	12,40	40,00
R6	8,00	7,80	8,40	10,00	R6	8,10	14,50	12,30	38,00
Promedio	7,77	7,75	8,30	10,22	Promedio	8,20	14,42	12,42	39,00
Concentración 3					Concentración 4				
	Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo		Girasol	Menta	Alfalfa	Testigo
R1	11,10	11,20	16,30	49,00	R1	13,90	17,40	19,20	60,00
R2	11,70	11,00	16,40	48,00	R2	13,90	17,50	19,10	59,00
R3	11,10	11,00	16,30	50,00	R3	13,10	17,60	19,20	58,00
R4	11,20	11,00	16,40	50,00	R4	11,30	17,30	19,20	60,00
R5	11,90	11,20	16,60	48,00	R5	13,80	17,60	19,30	60,00
R6	10,00	11,10	16,40	49,00	R6	13,60	17,50	19,10	58,00
Promedio	11,17	11,08	16,40	49,00	Promedio	13,27	17,48	19,18	59,17

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Fuente: La investigación

En la tabla 46 se presenta el análisis de varianza de las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio, donde presenta diferencias altamente significativas para concentración, especie, y la interacción concentración*especie. Los coeficientes de variación evaluados a los 15, 30 y 45 días, indican un porcentaje de 8,82%, 9,42%, y 2,7%, respectivamente.

Tabla 46.

Análisis de varianza para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio.

Fuentes de variación	Cuadrados medios		
	15 días	30 días	45 días
Concentración	1476,16**	1368,75 **	1498,12 **
Especie	4183,81 **	5092, 67 **	4458,47 **
Concentración*especie	459,59 **	513,51 **	484,27 **
C. V.	8,82	9,42	2,7

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

Las medias de las especies que se presentan en la tabla 47, indican que la especie E1 (girasol) absorbe cadmio en todos los períodos de tiempo en los que se evaluó, mostrando una mejor asimilación a los 30 días de exposición con el metal, así se presenta una concentración de 9,49 ppm.

Tabla 47.

Pruebas de Tukey (5%) para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.

15 días	Media	Rango	30 días	Media	Rango	45 días	Media	Rango
E1	10,07	a	E1	9,49	a	E1	10,1	a
E2	12,84	b	E2	10,13	a b	E2	12,68	b
E3	14,18	c	E3	10,66	b	E3	14,08	c
E4	38,55	d	E4	39,18	c	E4	39,35	d

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la tabla 48, se indica el rango de las concentraciones de cadmio a los 15, 30 y 45 días, donde se presenta que la concentración C1 (10 ppm del metal) tiene un valor de 7,77 ppm a los 30 días de exposición con cadmio, indicando la acción de la plántula en la reducción de la concentración de cadmio en el agua.

Tabla 48.

Pruebas de Tukey (5%) para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.

15 días			30 días			45 días		
	Media	Rango		Media	Rango		Media	Rango
C1	8,48	a	C1	7,77	a	C1	8,51	a
C2	18,58	b	C2	15,63	b	C2	18,51	b
C3	21,31	c	C3	20,45	c	C3	21,91	c
C4	27,27	d	C4	25,52	d	C4	27,28	d

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la tabla 49, se presentan las medias de la interacción de la concentración de cadmio por la especie vegetal en estudio, donde se muestra que la interacción C1E3 (concentración de cadmio 10 ppm con la especie de alfalfa), presenta un valor de 6,47 ppm a los 30 días de exposición con cadmio, es decir que en una concentración menor de cadmio, las plántulas asimilaron el contaminante en períodos largos de tiempo (30 días).

Tabla 49.

Pruebas de Tukey (5%) para las especies en estudio al encontrarse en contacto con el cadmio en diferentes concentraciones y periodos de tiempo.

15 días	Media	Rango	30 días	Media	Rango	45 días	Media	Rango
C1E1	7,57	a	C1E3	6,47	a	C1E2	7,75	a
C1E2	7,85	a b	C2E3	6,95	a b	C1E1	7,77	a
C2E1	8,32	a b	C1E1	7,2	a b c	C2E1	8,2	a
C1E3	8,33	a b	C1E2	7,55	a b c	C1E3	8,3	a
C1E4	10,17	a b c	C2E1	7,68	a b c	C1E4	10,22	b
C3E2	11,2	b c	C2E2	8,55	a b c	C3E2	11,08	b
C3E1	11,22	b c	C3E2	9,63	a b c d	C3E1	11,17	b
C2E3	12,57	c d	C1E4	9,87	b c d	C2E3	12,42	c
C4E1	13,17	c d e	C3E1	10,53	c d e	C4E1	13,27	c
C2E2	14,75	d e f	C4E1	12,17	d e f	C2E2	14,42	d
C3E3	16,5	e f g	C3E3	13,13	e f g	C3E3	16,4	e
C4E2	17,57	f g	C4E2	14,8	f g	C4E2	17,48	f
C4E3	19,32	g	C4E3	16,1	g	C4E3	19,18	g
C2E4	38,67	h	C2E4	39,33	h	C2E4	39	h
C3E4	46,33	i	C3E4	48,5	i	C3E4	49	i
C4E4	59,02	j	C4E4	59,02	j	C4E4	59,17	j

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la tabla 50 se presentan los valores del coeficiente de determinación para las variables de pH y absorción de cadmio donde se indica que, para la especie girasol, el 98% del cambio observado en la variable pH, se debe al efecto de la concentración de cadmio. Mientras que para la especie alfalfa, el 91% del cambio observado en la variable pH, se debe al efecto de la concentración del metal. No existe correlación con la especie menta.

Tabla 50.

Coeficiente de determinación para las variables de pH y la absorción de cadmio de las especies de girasol y alfalfa a las diferentes concentraciones

	Porcentaje del Coeficiente de Determinación (r^2) %	
	Girasol	Alfalfa
C1	98	91
C2	29	34
C3	96	60
C4	37	17

Fuente: La investigación

Elaborado por: Elizabeth Panchi

En la figura 33 se presenta las gráficas de regresión lineal donde indica las especies vegetales y la concentración a la que asimilaron cadmio de acuerdo al pH.

Regresión lineal de las especies vegetales y la concentración a la que asimilaron cadmio de acuerdo al pH

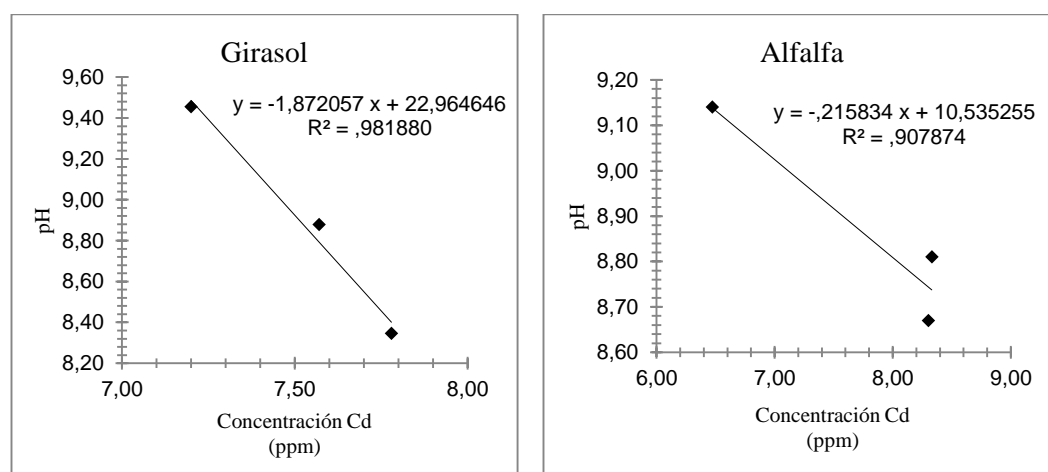


Figura 33. La investigación

CONCLUSIONES

Las fisiopatías detectadas al poner en contacto a las especies de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), con las diferentes concentraciones de cadmio, presentaron en general tres tipos de afecciones: 1) inhibición de la raíz, que afectó principalmente al girasol a los 30 días de exposición y a las tres especies a los 45 días de estar en presencia de concentraciones mínimas de cadmio; 2) retraso en el crecimiento de la planta. Los cambios se produjeron después de los 30 días, siendo las especies más sensibles, la menta y posteriormente el girasol y alfalfa a los 45 días; 3) afecciones de clorosis. Se produjeron en la menta a los 30 días de exposición con el cadmio en el tratamiento cuatro, predominando la afectación en la especie de girasol a los 45 días que provocaron la muerte de la plántula.

La concentración de cadmio en el efluente que se encuentra en contacto con las plántulas de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), variaron de acuerdo al tiempo de exposición con el contaminante. La reducción del contaminante se observó hasta los 30 días de exposición del metal junto con las plántulas de todas las especies, luego de lo cual las concentraciones volvieron a subir, debido a que la plántula se saturó con el metal a los 45 días. Con respecto a la concentración 1 (10 ppm de cadmio), la alfalfa fue quien redujo la concentración en el agua hasta 6,4 ppm. Con la concentración 2 (40 ppm de cadmio), la alfalfa de igual manera, fue la que redujo la concentración a 6,9 ppm, con respecto al respecto de especies. Con la concentración 3 (50 ppm de cadmio), la especie menta fue quien redujo la concentración a 9,63 ppm. Mientras que el girasol a la concentración de 60 ppm de cadmio, fue capaz de reducirla a 12,17 ppm.

De acuerdo a las variables evaluadas en las especies de girasol (*Helianthus annuus*), menta (*Mentha piperita*) y alfalfa (*Medicago sativa*), se concluye que las tres especies en estudio absorben cadmio. La especie alfalfa, mostró una mayor capacidad para captar el cadmio a los 30 días, presentando remoción y tolerancia a las concentraciones del metal de 10 y 40 ppm. Mientras que la menta fue efectiva para remover cadmio en concentraciones de 50 ppm a los 30 días. El girasol sin embargo, con la mayor de todas las concentraciones evaluadas (60 ppm de cadmio) fue la que redujo la concentración al menor valor.

RECOMENDACIONES

Realizar futuras investigaciones sobre otro tipo de especies vegetales endémicas, que posean la capacidad de retener contaminantes (metales pesados) en su metabolismo.

En función a los resultados obtenidos se recomienda, investigar el uso de especies vegetales macrófitas, para remover otro tipo de metales pesados presentes en efluentes líquidos industriales del país.

Evaluar el comportamiento de las especies de girasol, menta y alfalfa, en un medio hidropónico, cuando este en contacto con otro metal y concentraciones menores.

Implementar el trabajo de investigación realizado, a nivel de campo, para el tratamiento de efluentes industriales que contengan metales pesados.

LISTA DE REFERENCIAS

- A. Grifferty, & S. Barrington. (2000). Zinc uptake by Young Wheat Plants under Two Transpiration Regimes. Environ. Qual.
- Acosta, I. (2008). Remocion de Cr (VI) en solucion acuosa por la biomasa celular . Quito: Zarate.
- Alcivar. (2011). Concentración de Metales Pesados (Cr total, Pb Cd) en agua Superficial y Sedimentos en el Estero Salado de Guayaquil. Guayaquil: UG.
- Alonso, J. (1998). Tratado de Fitomedicina. Madrid: Bases Clínicas y Farmacológicas.
- Baker. (1981). Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. USA: Journal Plant Nutrition,.
- Baker, A. (2000). Metal hyperaccumulator plants: a review of he ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. En: hytoremediation of Contaminated Soil and Water. USA. : Lewis Publishers.
- Benavides, M. (2005). Cadmium toxicity in plants. Brazilian: Brazilian Journal of Plant Physiology.
- Bidwell, R. (1990). Fisiología Vegetal. Mexico, D. F.: AGT editor, S.A.
- Brown, S., & Chaney. (1994). Phytoremediation potential of Thlaspi caerulescens and bladder campion for zinc-contaminated and cadmium-contaminated soil. Journal of Environmental Quality.
- Calder L, M. (1998). Chromium Contamination of Groundwater” In: Chromium in the Natural and Human Environments. New York: Nriagu and E. Nieboer.
- Calderón, F. (2001). Que son los cultivos hidroponicos y el porque de la hidroponia. Bogotá - Colombia: Calderón Laboratorios Ltda.
- Calow, P. (1993). Handbook of ecotoxicology. London, England: Blackwell Science Ltd. .

- Castañeda, C. (2002). Crecimiento de la alfalfa en bacterias con condiciones de hierro limitante. Mexico: Adv Environ.
- Christie, P. (2004). Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. . J Plant Soil.
- Clark, R. (1992). Marine Pollution. USA: 3era edición, Editorial, Oxford University Press.
- Corbitt, R. (2003). Manual de referencia de ingeniería medioambiental. España: MacGraw-Hill Interamericana de España.
- David, J. (1995). Nickel - cadmium battery recycling evolution in Europe. Sources: Journal of Power.
- Dou, L. (1999). Medicina Laboral y Ambiental. Mexico: El Manual Moderno.
- Eddy & Metcalf . (1996). Ingeniería de aguas residuales, tratamiento, vertido y reutilización. Medellín - Colombia: Editorial Mc Graw Hill.
- Elizarrarás, S. (2005). Efecto de metales pesados en el crecimiento y desarrollo de la raíz de *Arabidopsis thaliana* L. Michoacán, México: Tesis profesional de Biólogo. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Energy BITTIUM. (2009). Recuperado el 24 de Noviembre de 2012, de <http://www.bittium-energy.com/cms/content/view/320008/272>
- Fleming, J. (2006). History of the Clean Air Act. EE UU: American Meteorological Society.
- Frers, C. (Junio de 2010). Ecojovent. Recuperado el 12 de Diciembre de 2011, de <http://www.ecojoven.com/Ecologia/aresiduales.html>
- Garzón, A. (2006). Información Plomo y Cadmio en el Ecuador. Quito: Ministerio del Ambiente.
- Harmann. (1977). Propagación de plantas. Principios y prácticas. México: Compañía editorial Continental.

- Holt, G. (1992). El Jardín del Gourmet - Los frutos del huerto a la mesa. España: Ediciones Hermann Blume.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. (2014). Pronóstico del tiempo "Pichincha". Quito: SIGIHM.
- Intawongse, M. (2006.). Uptake of heavy metals by vegetable plants grown on contaminated soil and their bioavailability in the human gastrointestinal tract. Food Additives and Contaminants.
- Kabata-Pendias. (2000). Trace elements in soils and plants. USA: Third Edition - CRC Press.
- Lasat, M. (2000). The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil. American Association for the Advancement of Science.
- Laws, R. (1991). Concentrations of trace metals in the livers of marine mammals (seals, porpoises and dolphins) from waters around the British Isles. New York: Marine Pollution Bulletin.
- Lucho, C. (2005). A multivariate analysis of the accumulation and fractionation of major and trace elements in agricultural soils in Hidalgo State, Mexico irrigated with raw wastewater. Mexico: Environmental International.
- Lumelli, M. F. (26 de Enero de 2010). Fitorremediación. Alcances y aplicación en el agro ecosistema argentino. Parte 1. Recuperado el Enero de 2013, de <http://www.estrucplan.com.ar/articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=2371>
- Maine, M. (2007). Phosphorous amount in floating and rooted macrophytes growing in wetlands. Ecological Engineering, 40.
- Mani, D. (2007). Phytoaccumulation, interaction, toxicity and remediation of cadmium from *Helianthus annuus* L. (sunflower). New York - USA: Bull Environ Contam Toxicol.
- Melgarejo, L. M. (2010). Biología y Germinación de las semillas. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

- Nahlik, A. (2006). Tropical treatment wetlands dominated by freefloating macrophytes por water quality improvement in Costa Rica. *Ecological Engineering*, 246-257.
- OMS. (2000).
- Piotrowski, J. (2008). *Enviromental hazards of heavy metals*. Londres: Universidad de Londres.
- Prasad, M. (2003). *Metal Hyperaccumulation in plants biodiversity prospecting for phytoremediation*. Valparaíso: University of Hyderabad.
- Pruoel. (25 de 02 de 1997). Universidad de Valencia. Recuperado el 23 de 07 de 2014, de http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_17.htm
- Purves, D. (1985). *Trace elements contamination of the environment*. Amsterdam: Elsevier.
- Ramírez, A. (2002). *Toxicología del cadmio, conceptos actuales para evaluar la exposición ambiental y ocupacional con indicadores biológicos*. Lima - Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Romero, B. (1990). *Semillas, biología y tecnología*. España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Rossi, C. (2012). *Calidad de la Semilla*. Curso Fitotecnia (pág. 4). Bogotá: Universal.
- Sepulveda, V. (2005). *Suelos Contaminados*. Recuperado el 11 de 02 de 2012, de Instituto Nacional de Ecología: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/459/cap4.html>
- Taiz y Zeiger. (2006). *Fisiología y bioquímica vegetal*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- TULAS. (s.f.). *Norma de calidad ambiental y descarga de efluentes: Recurso Agua - libro VI Anexo 1*. Quito - Ecuador: Ministerio del Ambiente.
- Wiltse, C. (1998). Greenhouse of agronomic and crude oil phytoremediation potential among alfalfa genotypes. *Journal of Enviromental Quality*, 169-173.

GLOSARIO

Alcalino: relativo a las sustancias que liberan iones hidroxilo (OH^-) en el agua, con un pH superior a 7.

Adsorción: adhesión de un líquido, un gas o una sustancia disuelta a un sólido, produciendo una mayor concentración de la sustancia. Unión de iones o moléculas a una superficie (por ej., a una partícula de suelo o de la raíz).

Bioacumulación: es el proceso de acumulación de sustancias químicas en organismos vivos de forma que estos alcanzan concentraciones más elevadas que las concentraciones en el medio ambiente o en los alimentos.

Biomagnificación: es cuando se produce una bioacumulación de sustancias tóxicas en el medio, se habla de biomagnificación.

Biomasa: toda la materia orgánica que proviene de la fotosíntesis. Incluye a los árboles, plantas y a los residuos asociados, desechos animales, industriales y municipales (papel). También, la masa total de organismos vivos que hay en una unidad de área (por ejemplo, en un fermentador).

Clorosis: amarillamiento de los tejidos normalmente verdes, debido a la destrucción de la clorofila o a la imposibilidad de sintetizarla.

Fisiología: estudio de las actividades y procesos de los organismos vivos

Potencial de Hidrogeno: el pH está definido como el potencial de hidrogeno, el cual se refiere a si una sustancia es ácida o básica. Sus valores están comprendidos entre 0 y 14, el valor neutro es el 7. La zona ácida está comprendida para valores menores de 7 y la zona básica para valores mayores de 7.

Tolerancia: capacidad que tiene una planta para soportar los efectos de una enfermedad sin que muera, sufra daños serios o se pierda la cosecha

Toxico: propiedad de las sustancias de ser venenosas

Translocación: transferencia de nutrientes o virus por toda la planta.

Resistencia: capacidad que tiene un organismo para no contraer una enfermedad en forma total o parcial.

ANEXOS

Anexos 1. Norma técnica ecuatoriana (INEN), determinación de Cadmio, método de la ditizona

<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) - Calle 17-61-31615 - Baños de San Mateo - Cuenca - Ecuador - República de Ecuador</p>	<p>CDU: 644.61</p>	<p>INEN</p>		<p>AL 01-08-313</p>
	<p>Norma Técnica Ecuatoriana</p>	<p>AGUA POTABLE. DETERMINACIÓN DE CADMIO METODO DE LA DITIZONA</p>	<p>INEN 982</p>	<p>NTE INEN 982</p>
<p>0. INTRODUCCION</p>				
<p>0.1 El cadmio puede estar presente en el agua como resultado de la contaminación con desechos industriales o por el deterioro de las tuberías galvanizadas.</p>				
<p>0.2 El cadmio es un metal altamente tóxico y se le ha atribuido varios casos de envenenamiento alimenticio.</p>				
<p>0.3 El método de la ditizona es satisfactorio para el análisis de cadmio en agua potable. Una muestra sintética desconocida que contenía: 50 µg/l Cd, 500 µg/l Al, 110 µg/l Cr, 470 µg/l Cu, 300 µg/l Fe, 70 µg/l Pb, 120 µg/l Mn, 150 µg/l Ag y 650 µg/l Zn, fue analizada por 44 laboratorios con una desviación estándar relativa del 24,6% y un error relativo del 6,0%.</p>				
<p>1. OBJETO</p>				
<p>1.1 Establecer el método de la ditizona para determinar el contenido de cadmio en agua potable.</p>				
<p>2. FUNDAMENTO</p>				
<p>2.1 El cadmio bajo condiciones apropiadas reacciona con la ditizona (difeniltiocarbazona), con la formación de un complejo coloreado o quelato de color rosado a rojo que puede ser extraído cuantitativamente de un medio acuoso con cloroformo. En la capa orgánica puede determinarse espectrofotométricamente el cadmio, y la concentración se obtiene a partir de una curva de calibración preparada con soluciones patrón tratadas de la misma forma que la muestra.</p>				
<p>3. DISPOSICIONES GENERALES</p>				
<p>3.1 Interferencias.</p>				
<p>3.1.1 En las condiciones que se lleva acabo la determinación por este método, las concentraciones de iones metálicos normales encontrados en el agua potable no interfieren.</p>				
<p>3.1.2 El plomo en concentraciones de hasta 6 mg, el zinc hasta 3 mg y el cobre hasta 1 mg en la alícuota analizada no interfieren.</p>				
<p>3.1.3 La luz ordinaria del laboratorio no afecta el color del complejo cadmio-ditizona.</p>				
<p>3.2 La cantidad mínima detectable es de 0,5 µg Cd con una celda de 2 cm.</p>				
<p>3.3 La conservación de la muestra puede hacerse con HNO₃ a pH2 hasta 6 meses en recipientes de plástico o de vidrio.</p>				
<p>(Continúa)</p>				
<p>1982-154</p>				
<p>4. EQUIPOS</p>				
<p>4.1 Equipo colorimétrico. Se requiere uno de los siguientes:</p>				
<p>4.1.1 <i>Espectrofotómetro.</i> Para usar a 518 nm con un trayecto de luz de 1 cm.</p>				
<p>4.1.2 <i>Fotómetro de filtro.</i> Equipado con un filtro verde con un máximo de transmitancia cercano a 518 nm y con un trayecto de luz de 1 cm.</p>				
<p>4.2 <i>Embudos de separación.</i> De 125 cm³, preferentemente con llaves de teflón.</p>				
<p>4.3 <i>Material de vidrio.</i> Lavar todo el material de vidrio incluyendo las botellas para muestras con HCl 1 ± 1 y enjuagar perfectamente con agua de la llave y luego con agua destilada.</p>				
<p>5. REACTIVOS</p>				
<p>5.1 <i>Solución madre de cadmio.</i> Pesar 100 mg de cadmio metálico puro y disolver en una solución compuesta de 20 cm³ de agua destilada más 5 cm³ de HCl concentrado. Calentar para ayudar a la disolución del metal. Transferir cuantitativamente la solución a un balón volumétrico de 1 000 cm³ y diluir hasta la marca con agua destilada: 1 cm³ = 100 µg Cd. Almacenar en un recipiente de polietileno.</p>				
<p>5.2 <i>Solución patrón de cadmio.</i> Pipetear 10 cm³ de solución madre de cadmio en un balón volumétrico de 1 000 cm³ y añadir 10 cm³ de HCl concentrado y diluir hasta la marca con agua destilada. La solución debe prepararse el día del uso, 1,00 cm³ = 1,00 µg Cd.</p>				
<p>5.3 <i>Solución de tartrato de sodio y potasio.</i> Disolver 250 g de KNa C₄ H₄ O₆ 4 H₂O en agua destilada y llevar a 1 000 cm³.</p>				
<p>5.4 <i>Soluciones de hidróxido de sodio-cianuro de potasio.</i></p>				
<p>5.4.1 <i>Solución I.</i> Disolver 400 g de NaOH y 10 g KCN en agua destilada y llevar a 1 000 cm³.</p>				
<p>5.4.2 <i>Solución II.</i> Disolver 400 g de NaOH y 0,5 g KCN en agua destilada y llevar a 1 000 cm³.</p>				
<p>5.4.3 Las soluciones que se indican en las secciones 5.4.1 y 5.4.2 son estables de 1 a 2 meses y deben ser guardadas en recipientes de polietileno (ver nota 1).</p>				
<p>5.5 <i>Solución de clorhidrato de hidroxilamina.</i> Disolver 20 g de NH₂OH · HCl en agua destilada y llevar a 100 cm³.</p>				
<p>5.6 <i>Solución madre de ditizona.</i> Disolver 100 mg de difeniltio carbazona en 1 litro de cloroformo, CHCl₃. Guardar en un frasco oscuro en el refrigerador hasta el momento de utilizarlo aun frío.</p>				
<p>NOTA 1. El cianuro de potasio, KCN es extremadamente venenoso. Deben tenerse cuidados especiales cuando se manipule este reactivo. Nunca utilice pipetas sin perla para sacar el (cualquier) de este reactivo.</p>				
<p>(Continúa)</p>				
<p>1982-154</p>				

5.7 Cloroformo, grado ACS, para utilizar en análisis de ditiona. La prueba para un cloroformo satisfactorio se realiza añadiendo una pequeña cantidad de ditiona en una porción de CHCl_3 , en un tubo de ensayo con tapa, de tal forma que se produzca un ligero color verde; el color verde debe ser estable por un día.

5.8 Solución de ácido tartárico. Disolver 20 g de $\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ en agua destilada y llevar a 1 000 cm^3 . Guardar la solución en el refrigerador; debe usarse aun fría.

5.9 Solución patrón de ditiona. Diluir 100 cm^3 de solución madre de ditiona a 1 000 cm^3 con cloroformo. Guardar en un frasco obscuro en el refrigerador y dejar que adquiera la temperatura ambiente antes de utilizarla.

5.10 Ácido clorhídrico, HCl concentrado.

5.11 Solución de hidróxido de sodio NaOH, 6N.

5.12 Solución indicadora de azul de timol. Disolver 0,4 g de timol sulfonaphthalina de sodio en 100 cm^3 de agua destilada.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Tratamiento de las muestras.

6.1.1 A un volumen de 200 cm^3 de muestra adicionar 0,5 cm^3 de HCl concentrado y evaporar hasta un volumen de 20 cm^3 .

6.1.2 Añadir unas pocas gotas de la solución azul de timol y luego solución de NaOH 6N, hasta que el indicador vire a amarillo a un pH aproximado de 2,8, llevar a un volumen de 25 cm^3 con agua destilada en el embudo de separación.

6.1.3 Si no se prepara la curva de calibración en el mismo momento, debe prepararse un blanco y un patrón que contenga 6 μg Cd en un volumen final de 25 cm^3 y correr juntamente con la muestra.

6.2 Desarrollo de color, extracción y medida.

6.2.1 A la muestra preparada según 6.1, añadir los reactivos en el siguiente orden, mezclando después de cada edición: 1 cm^3 de solución de tartrato de sodio y potasio, 5 cm^3 de solución 1 de NaOH - KCN, 1 cm^3 de solución de clorhidrato de hidroxilamina y 15 cm^3 de solución madre de ditiona. Tapar el embudo y agitar por 1 minuto eliminando la presión de vapor por la tapa preferentemente que por la llave.

6.2.2 Eluir la capa de cloroformo, CHCl_3 , en un segundo embudo que contenga 25 cm^3 de solución de ácido tartárico frío. Añadir 10 cm^3 de CHCl_3 al primer embudo, agitar por un minuto y eluir la capa orgánica en el segundo embudo. Evitar que la capa acuosa entre en el segundo embudo durante estas operaciones. Realizar las 2 extracciones en un tiempo mínimo, para evitar que el contacto entre el cloroformo y la solución alcalina sea muy prolongado y se descomponga el complejo ditiona-cadmio.

(Continúa)

1982-154

6.2.3 Agitar el segundo embudo por 2 minutos y descartar la capa de cloroformo. Añadir al embudo 5 cm^3 de CHCl_3 , agitar por un minuto y descartar la capa de CHCl_3 , permitiendo que la separación sea lo más definida posible.

6.2.4 Al residuo, en el embudo, adicionar en el siguiente orden, 0,25 cm^3 clorhidrato de hidroxilamina y 15 cm^3 de solución patrón de ditiona, 5 cm^3 de la solución (hidróxido de sodio-clanuro) II de NaOH - KCN e inmediatamente agitar por un minuto. Insertar un tapón de algodón en el vástago del embudo y filtrar la capa clorofórmica en un tubo seco del fotómetro.

6.3 Leer la absorbancia a 518 nm utilizando el blanco como referencia.

6.4 Obtener la concentración de cadmio por comparación con la curva de calibración (ver 7).

7. CURVA DE CALIBRACION

7.1 Pipetear 0,0; 2; 4; 6; 8 y 10 μg de cadmio en una serie de embudos de separación. Añadir suficiente agua destilada para llevar a un volumen final de 25 cm^3 .

7.2 Tratar a cada solución patrón (7.1) como se indica en (6.2).

7.3 Leer la absorbancia 518 nm utilizando el patrón 0,0 μg Cd como referencia y graficar la curva concentración versus absorbancia.

8. CÁLCULOS

8.1 El contenido de cadmio se determina mediante la siguiente ecuación, cuando se usa como referencia el patrón de 6 μg (ver 6.1.3).

$$\frac{\text{mg}}{l} \text{ Cd} = \frac{A2 \pm C}{A1 \pm S}$$

Siendo:

A1 = absorbancia del patrón tomado.

A2 = absorbancia de la muestra de agua.

C = μg de cadmio en el patrón tomado.

S = cm^3 de la muestra tomados para el análisis.

8.2 Cuando se ha preparado la curva de calibración y se obtiene la concentración de la muestra por comparación con la absorbancia del problema.

$$\frac{\text{mg}}{l} \text{ Cd} = \frac{m}{\text{cm}^3 \text{ de muestra}}$$

(Continúa)

1982-154

9. ERROR ACEPTABLE

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 3% del promedio de ambos valores; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación en mg/Cd.

10.2 Deben indicarse el método usado y el resultado obtenido; debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse todos los datos necesarios para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

1982-154

APENDICE Z

Z.1 NORMAS A CONSULTAR

Esta norma no requiere de otras para su aplicación.

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Colombiana ICONTEC 1164. *Agua potable. Determinación de cadmio.* Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Bogotá, 1978.

Standard Methods for the examination of water and wastewater 305 B. Cadmium. *Dithizone Method I.* 14th Edition, 1975.

Norma Sudafricana SABS Method 201. *Cadmium content of water.* South African Bureau of Standards. Pretoria, 1971.

1982-154

Anexos 2. Efecto en la germinación de las semillas, frente a la exposición de cadmio.

Especie Girasol				
Número de semillas germinadas				
Unidad = 4 semillas por bloque				
	Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración 4
R1	4	4	2	3
R2	3	4	3	4
R3	3	3	4	4
R4	2	3	4	4
R5	3	3	4	4
R6	4	4	3	4
Suma	19	21	20	23
Unidad	24	24	24	24
Porcentaje	79	88	83	96

Especie Alfalfa				
Número de semillas germinadas				
Unidad = 4 semillas por bloque				
	Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración 4
R1	2	2	3	4
R2	3	3	3	4
R3	4	3	3	4
R4	4	4	4	3
R5	4	3	4	4
R6	4	4	4	4
Suma	21	19	21	23
Unidad	24	24	24	24
Porcentaje	88	79	88	96

Especie Menta				
Número de semillas germinadas				
Unidad = 4 semillas por bloque				
	Concentración 1	Concentración 2	Concentración 3	Concentración 4
R1	4	3	3	4
R2	4	4	3	4
R3	4	4	4	4
R4	3	4	4	4
R5	3	3	4	4
R6	3	3	4	4
Suma	21	21	22	24
Unidad	24	24	24	24
Porcentaje	88	88	92	100

Anexos 3. Datos experimentales del control de crecimiento radicular para las especies vegetales en estudio.

- Girasol (*Helianthus annuus*)

Longitud de la raíz (mm) - 3 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	0,46	0,63	0,76	0,64	0,61	0,64	0,62
C2	0,65	0,69	0,78	0,55	0,64	0,49	0,63
C3	0,54	0,56	0,62	0,63	0,61	0,57	0,59
C4	0,45	0,54	0,71	0,67	0,46	0,73	0,59

Longitud de la raíz (mm) - 7 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	4,78	5,34	4,80	5,18	6,34	5,78	5,37
C2	6,21	5,25	5,82	4,93	5,96	6,86	5,84
C3	4,87	6,74	5,83	6,45	4,72	4,89	5,58
C4	7,28	4,79	5,78	6,25	7,12	5,79	6,17

Longitud de la raíz (mm) - 10 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	12,45	12,71	12,14	12,56	11,19	12,20	12,21
C2	11,13	11,21	11,18	12,04	13,22	13,02	11,97
C3	12,19	13,16	13,25	11,14	11,01	11,15	11,98
C4	11,26	12,11	12,08	13,16	13,26	12,27	12,36

Longitud de la raíz (mm) - 20 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	50,27	51,36	53,23	59,34	53,18	48,05	52,57
C2	51,23	47,13	54,78	51,09	48,16	53,67	51,01
C3	49,16	52,96	49,75	51,92	57,39	46,41	51,27
C4	53,92	48,12	57,31	49,44	56,14	56,24	53,53

Longitud de la raíz (mm) - 30 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	90,18	90,67	90,78	92,53	93,55	92,41	91,69
C2	90,45	89,88	93,45	90,77	90,12	89,54	90,70
C3	88,79	91,04	90,45	91,31	90,87	91,52	90,66
C4	90,56	91,23	91,17	90,55	91,03	88,46	90,50

Longitud de la raíz (mm) - 45 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	150,77	155,11	150,61	152,66	154,15	152,34	152,61
C2	154,62	153,13	151,39	157,11	152,20	150,44	153,15
C3	152,55	158,49	153,45	150,17	156,13	151,23	153,67
C4	150,23	151,34	150,68	152,53	151,82	153,04	151,61

- Menta (*Mentha piperita*)

Longitud de la raíz (mm) - 5 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	1,04	1,87	1,67	1,31	1,54	1,27	1,45
C2	1,75	1,14	1,54	1,77	1,53	1,34	1,51
C3	1,33	1,23	1,09	1,37	1,22	1,14	1,23
C4	1,05	1,79	1,06	1,19	1,33	1,25	1,28

Longitud de la raíz (mm) - 10 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	6,32	11,28	7,55	12,56	10,04	12,20	9,99
C2	5,76	11,21	11,18	9,53	11,03	11,32	10,01
C3	12,19	9,66	6,52	11,14	7,66	8,88	9,34
C4	11,26	12,11	12,08	13,16	9,96	8,34	11,15

Longitud de la raíz (mm) - 15 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	13,22	23,13	15,65	21,22	21,83	23,45	19,75
C2	19,44	24,54	18,16	19,08	25,35	21,43	21,33
C3	22,29	17,43	13,07	23,14	17,98	10,04	17,33
C4	23,19	23,98	20,39	28,39	14,51	15,76	21,04

Longitud de la raíz (mm) - 30 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	60,22	59,96	61,23	59,34	61,93	60,24	60,49
C2	52,11	62,23	55,04	55,09	68,04	50,67	57,20
C3	66,77	54,22	63,02	63,54	56,34	57,41	60,22
C4	50,88	62,15	62,13	62,68	55,15	56,10	58,18

Longitud de la raíz (mm) - 35 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	80,56	90,33	99,87	85,32	98,88	78,23	88,87
C2	90,45	87,54	75,16	83,44	99,64	87,45	87,28
C3	97,34	98,76	99,63	98,67	71,82	75,43	90,28
C4	95,03	83,22	85,44	99,68	93,20	58,22	85,80

Longitud de la raíz (mm) - 45 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	110,23	113,45	100,41	112,06	106,78	100,34	107,21
C2	100,05	111,67	105,52	112,34	101,15	100,45	105,20
C3	115,67	112,17	114,32	110,02	112,33	109,23	112,29
C4	101,38	114,11	111,87	113,20	100,93	102,15	107,27

- Alfalfa (*Medicago sativa*)

Longitud de la raíz (mm) - 3 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	0,46	0,32	0,22	0,34	0,41	0,51	0,38
C2	0,65	0,21	0,34	0,25	0,44	0,49	0,40
C3	0,54	0,49	0,51	0,36	0,31	0,27	0,41
C4	0,45	0,50	0,34	0,32	0,46	0,33	0,40

Longitud de la raíz (mm) - 7 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	0,58	0,40	0,28	0,40	0,46	0,60	0,45
C2	0,70	0,33	0,35	0,34	0,45	0,52	0,45
C3	0,65	0,51	0,55	0,48	0,41	0,35	0,49
C4	0,57	0,59	0,40	0,36	0,53	0,41	0,48

Longitud de la raíz (mm) - 25 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	25,67	22,56	23,08	30,05	26,44	29,42	26,20
C2	23,54	21,59	27,45	28,53	27,09	32,94	26,86
C3	28,65	29,42	31,04	32,12	31,34	29,50	30,35
C4	30,20	33,11	33,07	29,66	33,78	28,43	31,38

Longitud de la raíz (mm) - 35 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	55,45	54,32	56,28	50,22	47,44	50,11	52,30
C2	54,77	53,15	54,91	52,13	55,63	55,31	54,32
C3	52,14	55,67	51,21	56,25	59,55	52,44	54,54
C4	48,15	49,17	53,57	51,31	50,29	58,21	51,78

Longitud de la raíz (mm) - 40 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	55,46	54,78	56,98	50,99	50,37	50,83	53,24
C2	55,04	54,04	55,78	52,46	55,64	56,02	54,83
C3	53,87	56,05	52,15	56,77	59,58	53,12	55,26
C4	50,52	50,34	54,55	52,04	50,32	58,72	52,75

Longitud de la raíz (mm) - 45 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	56,32	55,25	57,43	51,75	50,96	51,03	53,79
C2	55,73	54,12	56,21	53,15	56,14	56,87	55,37
C3	54,64	56,69	52,37	57,93	59,92	53,47	55,84
C4	50,98	50,96	55,26	52,52	50,93	59,54	53,37

Anexos 4. Datos experimentales del control de crecimiento de la plántula para las especies vegetales en estudio.

- Girasol (*Helianthus annuus*)

Longitud del tallo (mm) - 10 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	91,39	95,49	92,51	91,39	90,35	91,74	92,15
C2	90,29	93,15	92,53	91,93	90,83	92,47	91,87
C3	93,48	91,93	95,83	97,31	96,54	95,18	95,05
C4	94,24	97,39	95,31	94,27	95,60	90,85	94,61

Longitud del tallo (mm) - 15 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	100,57	123,89	110,46	123,67	93,56	100,05	108,70
C2	121,15	122,83	113,87	121,61	112,34	121,67	118,91
C3	120,40	112,43	123,18	104,65	121,89	121,43	117,33
C4	122,35	120,82	123,35	121,34	123,89	120,54	122,05

Longitud del tallo (mm) - 25 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	115,23	136,11	130,89	140,85	114,54	115,78	125,57
C2	130,43	123,49	115,89	142,55	121,37	130,94	127,45
C3	124,56	119,23	144,46	112,47	135,48	141,22	129,57
C4	125,63	138,89	136,72	138,34	133,21	127,57	133,39

Longitud del tallo (mm) - 30 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	117,36	136,15	133,11	141,34	115,81	119,67	127,24
C2	135,32	129,23	118,49	149,78	130,32	139,16	133,72
C3	131,23	122,13	149,89	115,66	140,26	148,76	134,66
C4	133,94	140,41	143,58	145,28	141,25	130,91	139,23

Longitud del tallo (mm) - 40 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	118,12	140,34	135,22	141,34	115,97	120,12	128,52
C2	135,32	130,03	129,56	149,78	130,32	139,16	135,70
C3	133,25	122,13	150,13	116,04	140,26	148,76	135,10
C4	133,94	143,89	143,58	145,28	141,25	130,91	139,81

- Menta (*Mentha piperita*)

Longitud del tallo (mm) - 15 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	1,12	0,89	0,77	0,67	1,35	0,59	0,90
C2	0,78	0,57	1,56	0,74	0,84	1,11	0,93
C3	1,02	1,23	1,32	1,21	1,54	0,84	1,19
C4	1,45	0,92	1,21	1,56	0,93	1,23	1,22

Longitud del tallo (mm) - 20 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	1,53	1,56	1,83	1,65	1,78	0,89	1,54
C2	1,32	1,73	2,06	1,32	0,92	1,46	1,47
C3	1,54	2,15	1,46	2,12	1,93	1,15	1,73
C4	1,89	1,76	1,39	2,03	1,57	1,53	1,70

Longitud del tallo (mm) - 25 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	2,78	2,54	2,65	2,39	2,43	1,32	2,35
C2	2,45	2,45	3,05	2,65	1,32	2,56	2,41
C3	2,67	3,12	2,65	3,61	3,51	2,65	3,04
C4	2,81	2,43	2,61	3,22	2,93	2,32	2,72

Longitud del tallo (mm) - 30 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	4,43	3,45	3,04	3,67	3,21	2,74	3,42
C2	3,54	2,87	3,16	2,97	2,16	3,56	3,04
C3	3,67	3,98	3,12	3,65	4,65	3,22	3,72
C4	4,12	3,37	3,24	4,11	3,76	2,97	3,60

Longitud del tallo (mm) - 40 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	7,56	6,23	4,56	7,21	5,21	4,54	5,89
C2	5,78	5,36	7,21	7,26	4,63	6,43	6,11
C3	6,35	7,85	6,32	6,43	7,89	6,72	6,93
C4	6,82	6,73	6,68	7,35	5,62	4,52	6,29

Longitud del tallo (mm) - 45 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	8,11	7,03	6,15	7,21	6,24	5,10	6,64
C2	6,33	6,45	8,32	7,26	5,21	6,45	6,67
C3	7,56	8,65	6,32	6,45	8,01	6,72	7,29
C4	7,81	7,54	7,14	7,35	5,64	5,37	6,81

- Alfalfa (*Medicago sativa*)

Longitud del tallo (mm) - 10 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	7,21	7,29	7,54	7,43	6,38	7,12	7,16
C2	6,54	7,68	6,22	6,45	7,53	6,95	6,90
C3	7,25	6,78	7,34	6,03	7,64	7,04	7,01
C4	7,04	6,45	7,15	7,34	6,39	7,56	6,99

Longitud del tallo (mm) - 15 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	8,21	8,39	8,67	7,87	8,45	7,84	8,24
C2	7,29	8,27	6,98	7,82	8,21	8,12	7,78
C3	8,33	7,43	9,18	7,43	7,89	8,58	8,14
C4	9,45	7,78	8,79	8,92	7,45	9,02	8,57

Longitud del tallo (mm) - 25 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	10,12	10,78	11,34	10,70	12,19	10,93	11,01
C2	10,34	10,23	11,45	11,38	10,11	12,22	10,96
C3	11,02	10,20	10,67	9,45	9,81	10,83	10,33
C4	11,28	11,15	11,21	10,84	9,18	11,91	10,93

Longitud del tallo (mm) - 30 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	11,33	11,67	12,52	11,20	13,67	11,78	12,03
C2	10,98	11,56	12,30	13,11	12,32	13,41	12,28
C3	11,82	11,85	11,27	12,54	11,37	11,53	11,73
C4	11,86	12,23	14,50	13,43	11,48	12,76	12,71

Longitud del tallo (mm) - 40 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	15,02	16,71	15,32	17,93	18,49	15,62	16,52
C2	12,45	15,47	16,43	19,13	18,53	18,92	16,82
C3	15,21	15,22	18,44	16,82	14,38	17,53	16,27
C4	14,61	17,19	17,38	17,32	16,32	18,98	16,97

Longitud del tallo (mm) - 45 días							
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Media
C1	20,45	19,30	18,42	20,38	20,22	17,59	19,39
C2	13,49	18,95	19,32	21,29	22,43	20,36	19,31
C3	17,41	17,48	20,13	18,56	16,38	17,54	17,92
C4	16,89	20,05	23,22	19,54	21,17	19,87	20,12

Anexos 5. Control de la variación del potencial hidrogeno durante la investigación

- Girasol (*Helianthus annuus*)

15 días												
Concentración	C1						C2					
pH	8,74	8,99	8,62	9,02	8,99	8,91	8,84	9,16	9,03	9,16	9,15	9,16
Concentración	C3						C4					
pH	8,66	8,67	8,56	8,53	8,67	8,45	8,50	8,58	6,72	7,47	8,29	6,93
45 días												
Concentración	C1						C2					
pH	8,23	8,50	8,42	8,67	8,42	8,45	8,57	8,56	8,77	8,01	8,53	8,61
Concentración	C3						C4					
pH	8,58	8,69	8,70	8,80	8,92	8,79	8,49	8,71	8,83	8,57	8,36	8,72

- Menta (*Mentha piperita*)

30 días												
Concentración	C1						C2					
pH	7,63	7,08	7,86	7,69	7,67	7,75	8,89	8,76	8,72	8,75	8,77	8,83
Concentración	C3						C4					
pH	7,80	7,80	7,74	7,87	7,91	7,97	7,95	8,02	8,11	7,78	7,72	7,82
45 días												
Concentración	C1						C2					
pH	7,32	7,44	7,35	7,39	7,12	7,32	8,24	8,31	8,33	8,30	8,32	8,32
Concentración	C3						C4					
pH	7,44	7,53	7,51	7,48	7,51	7,46	7,09	7,12	7,15	7,20	7,13	7,12

- Alfalfa (*Medicago sativa*)

15 días												
Concentración	C1						C2					
pH	9,28	8,68	8,71	8,55	9,28	8,38	9,26	8,62	8,57	8,63	8,62	8,48
Concentración	C3						C4					
pH	9,28	7,03	7,03	7,94	8,38	7,03	7,22	6,54	6,88	7,61	8,35	7,94
30 días												
Concentración	C1						C2					
pH	9,48	9,18	9,09	9,07	9,03	8,99	8,79	8,62	8,72	8,98	8,93	8,53
Concentración	C3						C4					
pH	9,23	9,22	9,02	9,19	8,79	8,53	8,56	8,96	8,61	8,61	8,41	8,71

Anexos 6. Control de la absorción de cadmio mediante el uso del espectrofotómetro.

- Girasol (*Helianthus annuus*)

30 días												
Concentración	C1						C2					
Concentración de cadmio	6,40	7,10	7,20	7,30	7,30	7,90	7,90	7,40	8,20	7,40	7,70	7,50
Concentración	C3						C4					
Concentración de cadmio	13,0	10,70	12,30	9,10	9,60	8,50	11,80	8,70	14,20	16,10	11,90	10,30

45 días												
Concentración	T1						T2					
Concentración de cadmio	7,60	7,80	7,50	7,80	7,90	8,00	8,20	8,00	8,40	8,30	8,20	8,10
Tratamiento	T3						T4					
Concentración de cadmio	13,00	10,70	12,30	9,10	9,60	8,50	11,80	8,70	14,20	16,10	11,90	10,30

- Menta (*Mentha piperita*)

15 días												
Tratamiento	T1						T2					
Absorbancia Cd	9,30	8,70	7,40	7,80	8,30	5,60	15,60	12,50	14,60	14,80	15,30	15,70
Tratamiento	T3						T4					
Absorbancia Cd	11,10	11,50	11,80	11,30	11,70	9,80	16,60	18,90	14,60	16,70	18,90	19,70

45 días												
Tratamiento	T1						T2					
Absorbancia Cd	7,60	7,70	7,70	7,80	7,90	7,80	14,60	14,40	14,30	14,50	14,20	14,50
Tratamiento	T3						T4					
Absorbancia Cd	11,20	11,00	11,00	11,00	11,20	11,10	17,40	17,50	17,60	17,30	17,60	17,50

- Alfalfa (*Medicago sativa*)

15 días												
Tratamiento	T1						T2					
Absorbancia Cd	9,00	9,00	8,00	13,00	6,00	5,00	10,50	11,80	10,20	13,20	16,00	13,70
Tratamiento	T3						T4					
Absorbancia Cd	18,50	20,10	11,60	13,20	20,00	15,60	18,90	19,20	19,10	19,30	19,70	19,70

30 días												
Tratamiento	T1						T2					
Absorbancia Cd	4,90	7,50	4,50	8,80	6,80	6,30	6,90	6,60	6,40	7,70	7,20	6,90
Tratamiento	T3						T4					
Absorbancia Cd	11,80	11,70	11,60	11,90	11,80	20,00	11,50	12,10	17,10	18,80	19,50	17,60